N° d'Ordre :

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Claude GHIGLIONE

Licencié ès-sciences

Docteur d'État en pharmacie

Assistant

Chargé de cours à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marseille

PREMIÈRE THÈSE

Chromatographie par entrainement à la vapeur (Technique et applications à la séparation des composés aromatiques).

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 21 Mars 1961 devant la Commission d'examen

G. CARPENI	Président,
M. NAUDET L. SAVIDAN C. DUMAZERT	Examinateurs.

N° d'Ordre :

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Claude GHIGLIONE

Licencié ès-sciences

Docteur d'État en pharmacie

Assistant

Chargé de cours à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marseille

PREMIÈRE THÈSE

Chromatographie par entrainement à la vapeur (Technique et applications à la séparation des composés aromatiques).

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 21 Mars 1961 devant la Commission d'examen

G. CARPENI	Président,
M. NAUDET	Examinateurs.
L. SAVIDAN	
C. DUMAZERT	

FACULTÉ DES SCIENCES DE MARSEILLE
UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE

Mort au Champ d'Honneur, M. F. MARTY,
Maître de conférences de Mathématiques
(14 juin 1940)

DOYENS HONORAIRES

MM. MARCHAUD, TRAYNARD, CORROY, CHOUX.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. J. MARCHAUD, E. TRAYNARD, J. PERES, G. PETIT,
J. BOSLER, A. TIAN, L. MARGAILLAN, P. BENOIT.

DOYEN : M. P. ROUARD

ASSESSEUR : M. P. CHOUX

SECRETAIRE PRINCIPAL

M. C. MOYNAULT.

PROFESSEURS

MM. G. CORROY	Géologie et minéralogie	G. CARPENI	Chimie M. P. C.
P. CHOUX	Botanique.	C. JAUSSERAN	Physique M. P. C.
R. CERIGHELLI	Agronomie tropicale.	R. MOLINIER	Biologie végétale.
J. VALENSI	Mécanique expérimentale des fluides.	Y. DOUCET	Physique M. P. C.
		J. M. SOURIAU	Méthodes mathématiques de la physique.
P. ROUARD	Physique générale.		
H. PRAT	Botanique.	P. COTTON	Electronique.
P. DESNUELLE	Chimie biologique.	J. METZGER	Chimie S. P. C. N.
M. ABELOOS	Biologie générale.	J. TIMON-DAVID	Zoologie.
R. MERIGOUX	Physique industrielle.	L. FOURES	Mathématiques.
P. VINCENSINI	Calcul différentiel et intégral.	D. MALE	Physique.
		G. BODIOU	Mathématiques appliquées.
E. CALVET	Chimie générale.		
C. FEHRENBACH	Astronomie.	M. NAUDET	Chimie des corps gras.
A. FAVRE	Mécanique statistique de l'Atmosphère.	F. NAHON	Mathématiques.
A. GUILLEMONAT	Chimie industrielle.	J. PAILLARD	Psycho-physiologie.
J. M. PERES	Océanographie biologique.		

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. C. GOUVERNET	Géologie appliquée.	P. BOUSQUET	Physique S. P. C. N.
L. SAVIDAN	Chimie P. C. B.	A. JULG	Chimie théorique.
D. KASTLER	Physique théorique.	P. PESTEIL	Physique P. C. B.
C. CLARION (Mlle)	Mécanique des fluides.	S. WACHS	Mathématiques générales (Institut de Nice)
R. AMAR	Biologie animale P. C. B.	J. CHOUTEAU	Physiologie animale.

MAITRES DE CONFERENCES

MM. A. VISCONTI	Physique théorique.	J. TROMPETTE	Physique S. P. C. N.
J. LEFEBVRE	Chimie M. P. C.	R. MONIER	Chimie biologique.
L. DEVEZE	Biologie marine.	M. LAFFITTE	Chimie M. P. C.
S. TAXY (Mme)	Géologie historique.	L. SIDERIADES	Dynamique des vibrations.
M. BLANCHARD	Mathématiques générales.	J. MANDELBROJT	Physique nucléaire.
M. L. FURNESTIN (Mme)	Biologie animale.	F. BOREL	Mathématiques.
M. BERTRAND	Chimie S. P. C. N.	J. BLANC	Géologie marine.
		M. DUSSARDIER	Physiologie animale.

CHARGES DE CONFERENCES

MM. P. BENOIT	Physiologie.	L. COHEN-SOLAL	Physique.
J. MORIN	Neurophysiologie.	MOLINIER Roger	Biologie végétale.
B. GOUZON	Physiologie.	J. RICARD	Physiologie végétale.
V. CHARLIER DE CHILLY	Mathématiques.	D. SCHACHTER (Mme)	Ecologie terrestre et limnique.
H. GAVINI (Mlle)	Psycho-physiologie.		
P. JEAN	Physique.	L. GAFFIER	Botanique.
J. SENEZ	Chimie biologique.	LAGARDE (Mlle)	Chimie générale.
M. COTTON (Mme)	Mathématiques.	CATZIGRAS (Mlle)	Géologie.
H. GASTAUT	Neurophysiologie.	R. CHANDEBOIS (Mlle)	Biologie générale.
M. BEZAGUET	Chimie.	MATTEI (Mme)	Botanique.
S. GUEIRARD (Mlle)	Pétrographie.		

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A MA FEMME

A MON FILS

AUX MIENS

A Monsieur le Professeur G. CARPENI

auquel nous exprimons nos sentiments de vive reconnaissance pour l'accueil qu'il nous a toujours réservé et pour le grand honneur qu'il nous fait en voulant bien accepter de présider notre jury de thèse.

A Monsieur le Professeur M. NAUDET

en sincère reconnaissance pour la chaleur de son accueil, l'amabilité avec laquelle il nous prodigua ses conseils et l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger notre travail.

A Monsieur le Professeur L. SAVIDAN

que nous remercions très sincèrement pour la sollicitude qu'il nous a témoignée. Qu'il trouve, ici, l'expression de nos sentiments déférents.

A Monsieur le Professeur C. DUMAZERT

notre Maître, que nous remercions pour la confiance qu'il nous a manifestée, pour les conseils et les encouragements qu'il n'a cessé de nous prodiguer. Nous le prions de trouver, ici, l'assurance de notre profonde gratitude et de notre fidèle attachement.

SOMMAIRE

Pages

INTRODUCTION 9

CHAPITRE PREMIER

EXPOSE BIBLIOGRAPHIQUE

I - Sur la chromatographie gaz-liquide 12

A - La théorie des plateaux 13

B - Les théories cinétiques 14

C - Les facteurs modifiant l'efficacité des colonnes . . 14

a - La phase liquide 14
b - Le gaz vecteur 16
c - Le support 16
d - Dimensions du tube de la colonne 16
e - La température de travail 17

II - Sur la distillation par entraînement par les vapeurs appliquée à la chromatographie de partage 18

Distillation par entraînement par la vapeur et théorie de la chromatographie en phase gazeuse 19

CHAPITRE DEUXIEME

APPAREILLAGE ET TECHNIQUES

I - Appareillage 23

1 - Description 23

Pages

A - Dispositif d'alimentation en vapeur 24

a - La réserve de liquide 24
b - La burette à piston 24
c - Mécanisme d'entraînement du tambour gradué. 25
d - La micro-chaudière 25

B - La colonne à chromatographie 27

a - Le tube à chromatographie 27
b - Dispositifs d'introduction de l'échantillon ... 28

1. Premier dispositif 28
2. Deuxième dispositif 29

c - Le thermostat 30
d - Le microréfrigérant 31

2 - Fonctionnement de l'appareil 31

3 - Discussion 34

II - Matériaux et techniques 35

A - Les phases stationnaires 35

a - Le support inerte 35
b - Les phases liquides 35
c - Préparation des phases stationnaires 35

B - Les vapeurs d'entraînement 36

C - Techniques utilisées pour l'analyse des effluents . 36

a - Spectrophotométrie en lumière ultraviolette . . 36
b - Dosage colorimétrique 37

D - Composés aromatiques soumis à l'analyse chromatographique 38

CHAPITRE TROISIEME

ETUDE DE L'EFFICACITE, DU POUVOIR DE RESOLUTION ET DU POUVOIR DE SEPARATION DE NOTRE APPAREILLAGE EN FONCTION DE DIVERS FACTEURS 39

A - Influence de la quantité et de la nature de la phase liquide entrant dans la composition de la phase stationnaire 40

a - Influence de la proportion de phase liquide .. 40
b - Influence de la nature de la phase liquide : pouvoir de séparation 43

B - Influence de la longueur du tube de la colonne ... 47

Pages

C - Influence de la température de travail 49

D - Influence du débit de vapeur 49

E - Influence de la nature de la vapeur : eau et éthanol. 50

F - Influence de la quantité de substances chromatographiées 53

G - Déterminations quantitatives 53

CHAPITRE QUATRIEME

CHROMATOGRAPHIE PAR ENTRAINEMENT PAR LES VAPEURS DE DIFFERENTES SUBSTANCES AROMATIQUES .. 56

1) - Carbures aromatiques 57

2) - Dérivés monosubstitués du benzène 57

3) - Dérivés chlorés du benzène 60

4) - Phénols 61

5) - Ethers méthyliques des phénols 63

6) - Dérivés monochlorés du phénol 66

7) - Dérivés mononitrés du phénol 67

8) - Amines primaires 68

9) - N-alcoylanilines 69

10) - Aldéhydes aromatiques 71

11) - Alcool benzylique et acétophénone 72

CHAPITRE CINQUIEME

DISCUSSION DES RESULTATS ET ESSAIS D'INTERPRETATION 74

1 - Facteurs modifiant l'efficacité des colonnes 74

a - Quantité de phase liquide 74
b - Longueur du tube 75
c - Facteur température 75
d - Courant de vapeur 75

2 - Inter-réactions solutés-phases stationnaires 76

3 - Courbe représentative de la variation de la concentration d'un soluté dans l'effluent 79

4 - Position de notre technique parmi les autres méthodes chromatographiques 83

Pages

CHAPITRE SIXIEME

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES 86

BIBLIOGRAPHIE 88

FORMULAIRE 91

INTRODUCTION

Les techniques de l'analyse immédiate sont fondées sur des phénomènes tels que l'adsorption, la précipitation, la cristallisation, l'extraction par les solvants spécifiques, la distillation, la sublimation et l'entraînement par les vapeurs. Les analystes, souvent obligés de travailler sur des quantités très réduites de substance, ont fait appel à des techniques micro-analytiques parmi lesquelles la chromatographie a pris une place de choix.

La chromatographie peut être définie comme une technique dans laquelle la séparation des substances est réalisée à l'aide de leur différence de migration dans un milieu poreux (phase stationnaire), le cheminement étant assuré par un flux continu d'un fluide (phase mobile). Le fluide peut être un gaz ou un liquide ; la phase stationnaire, un solide ou un liquide imprégnant un support inerte (16, 34, 43). Cette définition, d'un caractère très général n'implique en rien la nature du phénomène physico-chimique qui préside à la séparation. Remarquons, cependant, que la plupart des méthodes de l'analyse immédiate ont été transposées sur le plan de la chromatographie.

C'est ainsi que l'on peut, dans une certaine mesure, rapprocher la chromatographie d'adsorption et plus particulièrement la chromatographie d'échanges d'ions, des méthodes de précipitation. L'extraction par les solvants, basée sur les coefficients de partage, a donné naissance à la chromatographie en phase liquide, mise en œuvre soit en colonne, soit sur papier. On connaît les extraordinaires applications de ce dernier procédé. Enfin, la distillation fractionnée est à l'origine de la mise au point de la chromatographie de partage en phase gazeuse, appelée également chromatographie gaz-liquide. La sublimation assez rarement utilisée en analyse

immédiate, n'a pas fait l'objet d'application chromatographique, bien qu'en théorie rien ne s'y oppose.

Il est curieux de constater qu'il en a été de même du procédé de distillation par entraînement par les vapeurs, et plus particulièrement par la vapeur d'eau, qui est pourtant d'un emploi fréquent en Chimie Organique. Aussi nous sommes-nous proposé d'étudier les possibilités de sa transposition dans le cadre de la chromatographie de partage et de mettre au point un dispositif expérimental approprié.

En raison de l'analogie existant entre un gaz et une vapeur, il nous paraît utile de définir, sans entrer dans trop de détails théoriques, ce qu'est la chromatographie gaz-liquide. Nous pourrons ensuite envisager les possibilités auxquelles peut conduire la substitution d'un gaz par une vapeur. Les données théoriques résultant des travaux de Jaulmes et de ses collaborateurs ainsi que les résultats d'expériences préliminaires nous serviront de bases. Ces données bibliographiques feront l'objet de notre premier Chapitre.

Nous nous sommes attaché à l'étude du comportement chromatographique des principaux dérivés organiques de la série aromatique. Ces substances présentent, parmi leurs propriétés physiques, celle d'être entraînables par les vapeurs. Par ailleurs, des méthodes analytiques simples et précises sont susceptibles de permettre leur caractérisation et leur dosage.

Le premier problème qui s'est présenté a été d'ordre technique. En effet, nous nous sommes proposé de réaliser un appareillage qui puisse être construit dans n'importe quel laboratoire, si modeste soit-il. La deuxième partie de notre exposé sera consacrée à une description détaillée de l'installation que nous avons conçue et réalisée.

Dans la troisième partie, nous étudierons l'efficacité, le pouvoir de séparation et le pouvoir de résolution du dispositif que nous préconisons. La séparation des phénols a été prise comme thème de cette étude. Nous avons fait porter nos recherches sur les principaux facteurs qui entrent en jeu dans les opérations chromatographiques, à savoir :

- proportion et nature de la phase liquide entrant dans la composition de la phase stationnaire.

- débit et nature du liquide producteur de la phase mobile.

- longueur du tube de la colonne.

- température de fonctionnement du dispositif.

Par ailleurs, nous avons considéré le comportement de quan-

tités différentes d'un même soluté, en ce qui concerne son volume de rétention et l'allure de son *pic* d'émergence. A cette occasion, nous donnons des résultats d'ordre quantitatif qui mettent en évidence la possibilité de réaliser de véritables dosages par notre méthode. Ces données nous étaient indispensables pour fixer les meilleures conditions opératoires afin de conférer à notre technique un caractère d'application général.

Dans la quatrième partie de notre travail, nous avons rassemblé des exemples choisis portant sur la séparation de substances aromatiques simples et typiques des principales familles de la Chimie Organique.

L'examen de nos résultats nous permettra dans un dernier Chapitre de discuter de la valeur de notre technique. Nous envisagerons à cette occasion, les inter-réactions solutés-phases stationnaires qui peuvent être mises en évidence, l'interprétation de l'allure des *pics* chromatographiques en relation avec la théorie de Jaulmes et collaborateurs. Enfin, nos résultats seront comparés à ceux relevés dans la littérature et obtenus à l'aide des méthodes chromatographiques classiques.

CHAPITRE I

EXPOSÉ BIBLIOGRAPHIQUE

I - SUR LA CHROMATOGRAPHIE GAZ-LIQUIDE

La chromatographie gaz-liquide a été prévue par Martin et Synge (35) en 1941, mais n'a été réalisée sur le plan expérimental que onze années plus tard par James et Martin (20). On peut décrire schématiquement un appareil de chromatographie gaz-liquide de la manière suivante :

Un long tube de verre ou de métal est rempli d'une phase stationnaire. Celle-ci est préparée à partir d'un support inerte, constitué par une substance poreuse réduite en grains de dimension convenable imprégné d'une substance liquide (solvant)(1). Le tube convenablement garni est placé dans un thermostat.

---

(1) Terminologie :
Nous avons adopté la terminologie utilisée par P. Chovin :
En chromatographie en *phase gazeuse* on distinguera :
"Lorsque la colonne est remplie d'un adsorbant, on parle de chromatographie d'adsorption ou mieux, de chromatographie *gaz-solide*.
S'il est fait emploi d'un liquide peu volatil, réparti sur un *support* il s'agit de chromatographie de *partage* ou *gaz-liquide*.
Les substances à séparer constituent toujours les *solutés* par un prolongement de l'emploi qui est fait de ce terme en chromatographie en phase liquide, prolongement justifié en chromatographie de partage où le liquide non volatil dissout les constituants du mélange.
Le gaz qui les véhicule est appelé *gaz vecteur*. La phase gazeuse ou *phase mobile* est constituée par le mélange du gaz vecteur et des solutés. Le remplissage de la colonne constitue la *phase fixe* ou *phase stationnaire*. Il n'y a pas d'ambiguité en chromatographie d'adsorption, mais, dans la technique de partage, la phase fixe désigne aussi bien l'ensemble support + liquide que le liquide seul. Dans le cas où l'on veut préciser qu'il ne s'agit que du liquide, on l'appelle le *solvant*. (loc. cit) (7).

A l'entrée de la colonne on introduit, à l'aide d'un dispositif convenable, l'échantillon des substances que l'on désire analyser ou "solutés". On fait parcourir l'ensemble du système par un courant gazeux. L'effluent gazeux est analysé à l'aide d'un dispositif physique ou *détecteur* (catharomètre, balance à densité gazeuse, détecteur à flamme ou à ionisation).

Les indications après amplifications, sont enregistrées en fonction du temps. L'émergence d'un soluté se traduit en général par un *pic* ou *vague*.

Un appareil en chromatographie en phase gazeuse est caractérisé par son efficacité, son pouvoir de résolution et son pouvoir de séparation.

L'efficacité traduit la tendance à élargir plus ou moins le *pic* correspondant à un soluté. Le pouvoir de résolution et le facteur de séparation caractérisent respectivement l'aptitude à séparer la base de deux *vagues* et à séparer les sommets des deux *pics*.

Si le facteur de séparation dépend uniquement de la nature de la phase liquide utilisée, par contre l'efficacité et le pouvoir de résolution sont liés à un ensemble de conditions techniques telles que : la longueur et le diamètre de la colonne, la nature et la granulométrie du support inerte, la quantité de la phase liquide imprégnant le support, les pressions d'entrée et de sortie ainsi que le débit du gaz vecteur. A ces facteurs s'ajoute la température dont le rôle est des plus importants dans toutes les opérations chromatographiques.

De très nombreuses recherches ont été effectuées pendant ces huit dernières années dans le but d'analyser les phénomènes régissant les séparations chromatographiques (P. Chovin 4, 5, 6, 7). Les recherches récentes ont abouti à l'élaboration de diverses théories qui ont permis de porter la technique à un très haut degré de perfection. Deux groupes de théories se trouvent en présence, qui loin de s'exclure ne peuvent être considérés l'un sans l'autre. Le premier découle des conceptions de Martin et Synge et est connu sous le nom de "théorie des plateaux". Le deuxième comprend les théories dites "cinétiques".

A - La théorie des plateaux s'appuie sur l'analogie existant entre une colonne à chromatographie et une colonne à distillation fractionnée (Peters 39). Il est alors logique de définir en chromatographie une longueur h de colonne équivalente à un plateau théorique d'une colonne à distiller. Cette longueur h est définie comme la hauteur de colonne telle que le mélange gazeux qui s'en échappe est en équilibre avec la concentration moyenne du corps dissous dans la phase fixe qui est contenue dans l'élément considéré.

Le rendement d'une colonne à chromatographie sera fonction

de son nombre r de plateaux théoriques. On notera que l'efficacité sera d'autant plus élevée que la hauteur h *"hauteur équivalente à un plateau théorique"* sera plus faible.

La concentration du soluté dans l'effluent est maximum lorsqu'un volume v de phase mobile a circulé dans la colonne. Ce volume est appelé volume de rétention (V_R) et caractérise le soluté chromatographié dans les conditions expérimentales définies (32).

La théorie des plateaux permet d'interpréter la courbe représentative de la variation de la concentration d'un soluté dans l'effluent d'une colonne et de déterminer le nombre de plateaux théoriques de celle-ci. Elle permet de comparer entre elles l'efficacité de deux colonnes, mais, elle ne nous renseigne pas sur les modifications des conditions opératoires qui confèrent à une colonne donnée une efficacité optimum.

B - Les théories cinétiques apportent des données intéressantes dans ce domaine (46). En effet, ces théories sont basées sur l'étude du phénomène physique qui régit le cheminement du soluté le long de la colonne. Le mouvement des molécules du soluté est sous la dépendance des phénomènes suivants : dans la phase fixe existent un transport par convection et une diffusion longitudinale, dans la phase mobile on assiste également à des phénomènes de diffusion moléculaire. Enfin, un échange de masse s'établit entre la phase mobile et la phase liquide.

Nous n'avons pas cru indispensable à l'entendement de notre travail de présenter, ici, les développements mathématiques de toutes ces théories. Par ailleurs, pour demeurer sur le plan technique qui est celui de notre travail, il nous paraît suffisant de rappeler ci-dessous un certain nombre de conclusions qui découlent à la fois de ces théories et de la pratique et qui sont relatives aux facteurs susceptibles de modifier l'efficacité des colonnes.

C - Les facteurs modifiant l'efficacité des colonnes sont relatifs d'une part, aux phases liquide et gazeuse, au support inerte, et d'autre part à ceux dépendant plus particulièrement du dispositif expérimental : longueur et diamètre du tube de la colonne ainsi que la température de travail.

a) La phase liquide.

L'efficacité et le pouvoir de résolution du dispositif sont liés à la proportion de la phase liquide dans la constitution de la phase stationnaire.

La quantité de phase liquide est un facteur qui intervient dans l'expression de la hauteur du plateau théorique d'une colonne (46). On en déduit qu'une proportion trop importante de cette phase, par rapport au support inerte, en augmentant les phénomènes de diffu-

sion, est nuisible. D'un autre côté, une quantité trop faible rend les séparations impossibles. Un compromis doit être envisagé.

Lors des premiers travaux effectués en chromatographie en phase gazeuse les expérimentateurs utilisaient des phases stationnaires très riches en phase liquide (de l'ordre de 30 à 40 g de liquide pour 100 g de support inerte). A l'heure actuelle l'expérience, en accord avec les données théoriques, conduisent à adopter des phases stationnaires relativement pauvres (2,5 à 5 g de liquide pour 100 g de support) dans la réalisation de colonnes à haute efficacité.

Des considérations pratiques dictent le choix de cette phase. En effet, elle doit être stable à la température de l'expérience, ne doit être ni trop fluide, ni trop visqueuse, ne pas être entraînée par le courant gazeux et ne pas réagir chimiquement avec les solutés chromatographiés. Pour la séparation de deux solutés, on choisira une phase pour laquelle les coefficients de partage sont les plus différents possibles.

Le choix de la phase liquide est sous la dépendance de la nature polaire ou non polaire des molécules à séparer (Rohrschneider 40). Plusieurs possibilités peuvent se présenter lorsque l'on considère les polarités respectives du liquide et des substances que l'on désire séparer.

Le premier cas est représenté par l'emploi d'une phase liquide de même polarité que celle des deux solutés à séparer (tous trois sont polaires ou apolaires). La nature des forces exercées entre le liquide et les deux solutés est la même que celle existant dans les liquides purs. Dans ce cas les pressions de vapeur régleront l'ordre de sortie des solutés.

Selon une autre éventualité, les deux solutés sont tous deux polaires ou non polaires alors que le liquide stationnaire est de type opposé. Les forces de liaisons entre le liquide et les solutés seront différentes de celles des liquides purs, mais la variation, pour les deux substances sera de même signe. Ici encore, l'ordre de sortie sera réglé par les pressions de vapeur.

La dernière conjoncture est représentée par la séparation d'un soluté polaire et d'un soluté non polaire à l'aide d'une phase de polarité quelconque, mais qui se trouve forcément être de même type qu'un des deux solutés. Les liaisons établies entre le liquide et le soluté de même signe seront tout à fait différentes de celles existant entre le liquide et le soluté de polarité opposée. Il en résultera que la chromatographie discernera deux substances de polarités différentes, mais de températures d'ébullition très voisines ne pouvant être séparées par distillation fractionnée.

Le choix judicieux de la phase liquide, permet, pour un appareillage donné, d'obtenir du procédé chromatographique le meilleur parti de ses immenses possibilités.

b) Le gaz vecteur.

En chromatographie gaz-liquide tout se passe comme s'il y avait partage entre le liquide fixe et le gaz. En réalité il semble que le processus fondamental repose sur l'existence de rapports déterminés entre les pressions d'équilibre des divers corps dissous dans la phase liquide. De ce fait la nature du gaz vecteur paraît être sans grande importance. La théorie des plateaux néglige l'étude du gaz vecteur. Les théories cinétiques mettent par contre en évidence l'importance de la phase mobile tant au point de vue quantitatif que qualitatif.

On sait (15) que de deux gaz c'est celui qui a la masse moléculaire la plus élevée qui possède la plus faible diffusibilité. Or la diffusibilité du gaz intervient dans la valeur de la hauteur du plateau théorique (46). On aura donc intérêt à utiliser des gaz relativement lourds (azote, gaz carbonique) plutôt que légers (hydrogène, helium).

L'efficacité d'une colonne est en relation directe avec la vitesse du gaz la traversant. Il existe une vitesse qui, pour une colonne donnée, correspond à un nombre de plateaux théoriques maximum. Il est nécessaire que cette vitesse demeure constante pendant toute la traversée du tube. Ceci implique des pressions d'entrée et de sortie parfaitement réglées, tout en permettant au détecteur de fonctionner avec une bonne sensibilité.

c) Le support.

Il doit être inerte, suffisamment poreux pour retenir une quantité appréciable de phase liquide, mais pas trop afin de ne pas augmenter les phénomènes d'adsorption.

De nombreux supports ont été préconisés (terres d'infusoires (Coelite), brique réfractaire, quartz, sable, kieselguhr...). La dimension des grains de cette phase est un facteur important dans le rendement d'une opération chromatographique. Le diamètre des grains entre dans le calcul de la hauteur du plateau théorique. Il est nécessaire d'envisager un compromis entre l'emploi d'un support réduit en poudre fine ou grossière. Il faut, en effet, tenir compte des irrégularités de remplissage et de la sinuosité des chemins offerts au passage des gaz vecteurs. A l'heure actuelle des grains de 350 µ à 500 µ de diamètre paraissent être utilisés en règle générale.

d) Dimensions du tube de la colonne.

La longueur du tube influe directement sur le nombre de plateaux théoriques d'un dispositif. Il n'y a "*à priori*" aucune objection

à formuler sur l'emploi de tubes très longs. Néanmoins leur construction présente de grandes difficultés auxquelles s'ajoutent celles de leur remplissage. On remarquera également que leur emploi nécessite une pression d'entrée élevée et conduit à une perte de charge appréciable. Le temps nécessaire à une opération chromatographique devient alors très important. Ces considérations ont amené les constructeurs à réaliser des tubes de colonne de longueurs comprises entre un et douze mètres.

Un raisonnement analogue conduit à utiliser des tubes de 0,2 à 0,8 cm de diamètre. En effet, dans des tubes trop larges les phénomènes de diffusion augmentent (détérioration des fronts) et dans un tube trop étroit le passage du gaz vecteur est considérablement freiné.

e) La température de travail.

L'expérience a montré que la valeur du logarithme du volume de rétention corrigé est inversement proportionnel à la température absolue de la colonne (32). Par conséquent, le rapport des volumes de rétention augmente lorsque la température diminue. Il faut donc opérer à la température la plus basse possible, compatible avec la nature des substances chromatographiées (19).

En conclusion nous citerons les règles pratiques énoncées par Cheshire et Scott (3) dans le but de réaliser des colonnes de haute efficacité.

1) Lorsque l'on désire effectuer des séparations de solutés à haut point d'ébullition, les colonnes doivent être courtes, la température la plus basse possible et la phase liquide en faible proportion par rapport au support inerte.

2) Pour les solutés à bas point d'ébullition, les séparations seront améliorées par l'emploi de colonnes longues sans pour cela faire varier la proportion de phase liquide qui doit rester faible. Dans ces conditions l'efficacité est proportionnelle à la longueur du tube.

Ces considérations générales demeurent-elles valables si l'on se propose de remplacer le gaz vecteur par des vapeurs ? Pour répondre à cette question il nous paraît nécessaire de rappeler quelques notions relatives à la distillation par entraînement à la vapeur.

II - SUR LA DISTILLATION PAR ENTRAINEMENT PAR LES VAPEURS APPLIQUEE A LA CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE

Nous pouvons envisager maintenant, à la lumière des données expérimentales et théoriques de la chromatographie en phase gazeuse, les perspectives qui paraissent offertes par l'utilisation d'une vapeur en chromatographie de partage.

Nous avons signalé que l'utilisation d'un gaz nécessite un appareillage fort complexe. On remarquera avec P. Chovin (5) "qu'alors que l'appareillage de la chromatographie en phase liquide est simple, il se complique (ici) et met en œuvre tout un arsenal d'accessoires qui élèvent très sérieusement le prix de revient d'une installation" (*loc. cit.*). On est, en général, dans l'obligation de se procurer l'appareillage auprès d'une firme spécialisée et il sera difficile, voire même impossible, dans certains cas, d'adapter son installation à certains problèmes envisagés.

Il semble, par contre, que l'utilisation comme phase mobile de vapeur engendrée par le chauffage convenable d'un solvant volatil permette de revenir à des dispositifs plus simples et moins onéreux.

En effet, des expériences préliminaires effectuées par C. Dumazert et nous-même (10) semblent ouvrir dans cette voie des perspectives intéressantes. Il a été possible d'effectuer la séparation des premiers termes de la série des acides gras par entraînement par les vapeurs d'éthanol, en utilisant un support constitué par un granulé de brique imprégné d'huile de paraffine.

Ces résultats sont apparus comme assez satisfaisants pour valider le principe de la méthode et nous engager à perfectionner le dispositif initial.

La distillation par entraînement par les vapeurs n'a pas fait l'objet de très nombreux travaux (21, 31, 37), malgré ses importantes applications industrielles.

Nous retiendrons parmi les théories proposées celle élaborée par Jaulmes (21) en 1937. Elle repose sur les données expérimentales résultant de l'étude du *barboteur élémentaire*. Ces recherches ont été complétées par Mestres (36) qui en 1957 a envisagé le problème inverse, c'est-à-dire celui du *lavage* d'une vapeur mixte par un solvant liquide. Ces travaux ont conduit Jaulmes et Mestres (22, 23) à proposer une théorie originale de la chromatographie gaz-liquide en assimilant une colonne à chromatographie à une série de *barboteurs-laveurs élémentaires*.

La théorie de ces auteurs nous paraît donc particulièrement adaptée au processus que nous désirons étudier et dont nous avons

déjà précisé certaines bases expérimentales. Ceci justifie la description détaillée de la théorie de Jaulmes et Mestres à partir des données relevées dans la littérature (21, 22, 23, 24).

Distillation par entraînement par la vapeur et théorie de la chromatographie en phase gazeuse (Jaulmes et Coll.).

Nous rappelons que la théorie de Jaulmes repose sur l'étude de l'entraînement par la vapeur d'eau des acides volatils en solution dans un volume donné de ce solvant.

Si l'on appelle :

A_1 : la masse de l'acide en solution.

A_2 : la masse de l'acide restant après la distillation.

Y : la masse de l'acide distillé.

M : la masse de solution à distiller à volume constant.

N : la masse de liquide distillé.

K : coefficient de distillation, caractéristique d'une substance et déterminé à partir du fait qu'en solution diluée lorsque la vapeur est en équilibre avec la solution la concentration de l'acide dans la vapeur est proportionnelle à sa concentration dans la solution.

Le titre de l'acide dans la vapeur est :

$$\frac{dY}{dN}$$

Le titre de l'acide dans le liquide est :

$$\frac{A_1 - Y}{M}$$

D'où :

$$\frac{\frac{dY}{dN}}{\frac{A_1 - Y}{M}} = K \qquad \text{et} \qquad \frac{dY}{A_1 - Y} = dN \frac{K}{M}$$

et :

$$d \operatorname{Log}_n \; A_1 - Y = - K \frac{dN}{M} \qquad M \text{ étant constant,}$$

donc :

$$\operatorname{Log}_n \frac{A_1 - Y}{A_1} = - \frac{K}{M} N$$

enfin :

$$Y = A_1 \left(1 - e^{-\frac{K}{M}N}\right)$$

Ce premier résultat théorique, confirmé par l'expérience, a conduit Jaulmes et Mestres à proposer dans le cadre de la chromatographie gaz-liquide la théorie suivante :

Soit une colonne à chromatographie de L cm de longueur contenant son matériel de remplissage poreux sur lequel est réparti régulièrement le solvant liquide non volatil.

Si l'on pose :

h : longueur du segment de la colonne tel que le gaz qui s'en échappe soit en équilibre avec le liquide réparti sur le support solide (h correspond à un plateau théorique).

M : la masse de phase liquide retenue sur cet élément.

K : coefficient caractéristique de la substance chromatographiée pour la température et la pression données. Ce coefficient peut être défini comme le rapport de la concentration de la substance étudiée dans le gaz mobile à sa concentration dans le liquide immobile.

Q : quantité de substance étudiée et fixée sur le premier plateau.

Y : quantité de cette substance entraînée dans la colonne par la masse N de gaz.

N : masse de gaz entraînant dans la colonne la quantité Y de substance.

La théorie du *barboteur élémentaire* conduit à ce que la quantité Y entraînée satisfasse à la relation :

$$Y = Q \left(1 - e^{-\frac{K}{M}N}\right) \qquad [1]$$

Cette quantité entraînée est fixée sur le plateau suivant constituant le premier laveur, pour en être ultérieurement chassée et ainsi de suite. On peut calculer la quantité Z_n qui a traversé n laveurs. L'intégration des diverses équations différentielles établies pour le 1), le 2), le 3)... le n° plateau conduit à la relation :

$$Z_n = Q \left[1 - e^{-\frac{K}{M}N}\left(1 + \sum_{1}^{n} \frac{K^n}{n!\, M^n} N^n\right)\right] \qquad [2]$$

La fonction dérivée donne la concentration enregistrée par le détecteur à la sortie de la colonne de (n + 1) plateaux théoriques :

$$\frac{dZ_n}{dN} = \frac{Q}{n!\, N} \left(\frac{K}{M} N\right)^{n+1} e^{-\frac{K}{M}N} \qquad [3]$$

La dérivée seconde de [2], soit :

$$\frac{d^2 Z_n}{dN^2} = \frac{Q}{n!} \left(\frac{K}{M}\right)^{n+1} N^{n-1} e^{-\frac{K}{M}N} \left(n - N\frac{K}{M}\right) \qquad [4]$$

s'annule pour $N = n\left(\frac{M}{K}\right)$, abscisse du sommet du *ptc* dont la hauteur est :

$$\frac{dZ_n}{dN} = Q \frac{Kn^n}{Mn!} e^{-n}$$

soit, pour n supérieur à 10 : (approximation de Stirling) :

$$\frac{dZ_n}{dN} = Q \frac{K}{M} \frac{I}{\sqrt{2\pi n}} \qquad [5]$$

La courbe $\left(\frac{dZ}{dN}, N\right)$ présente deux points d'inflexion I' et I'', dont les abscisses sont données par les deux racines de la dérivée troisième de [2] :

$$\frac{d^3 Z_n}{dN^3} = \frac{Q}{n!} \left(\frac{K}{M}\right)^{n+1} e^{-\frac{K}{M}N} N^{n-2} \left[\left(n - \frac{K}{M}N\right)^2 - n\right] \qquad [6]$$

les racines étant :

$$N' = \frac{M}{K}(n - \sqrt{n}) \qquad \text{et} \qquad N'' = \frac{M}{K}(n + \sqrt{n})$$

La courbe est dissymétrique car le rapport des ordonnées des points d'inflexion ne tend vers l'unité que pour n infini.

L'influence des espaces vides de la colonne a été également interprétée par Jaulmes et Mestres (24).

Si la masse de phase gazeuse contenue dans un plateau théorique est (G + G'), G étant la masse en équilibre avec le liquide et G' la masse chassée vers le plateau suivant, la quantité de soluté déplacé par N de gaz vecteur est :

$$Z_n = Q \left[1 - \exp \frac{-K(N - nG')}{M + KG} \sum_{i=0}^{i=n} \frac{K(N - nG')^i}{i!(M + KG)^i}\right] \qquad [7]$$

Ces auteurs n'ont pas apporté à la suite de ces considérations théoriques des données expérimentales suffisamment précises, aussi serons-nous amené à les discuter en fonction des résultats de notre travail.

L'examen de cet ensemble de données nous paraît donc justifier nos recherches dans le but de mettre au point un dispositif expérimental et d'étudier les possibilités d'une technique chromatographique de partage par entraînement par les vapeurs.

CHAPITRE II

APPAREILLAGE ET TECHNIQUES

I - APPAREILLAGE

1 - DESCRIPTION -

Il était indispensable avant d'aborder l'étude de la chromatographie par entraînement par les vapeurs de concevoir un dispositif spécial. Celui-ci doit comprendre un certain nombre de parties : un générateur de vapeur assurant un débit régulier et reproductible, un tube à chromatographie muni d'un dispositif d'introduction d'échantillon à analyser, un thermostat assurant à la colonne une température constante et enfin un micro-réfrigérant permettant de condenser les vapeurs constituant l'effluent de la colonne.

C'est ainsi que nous proposons un ensemble qui est schématisé dans la figure n° 1.

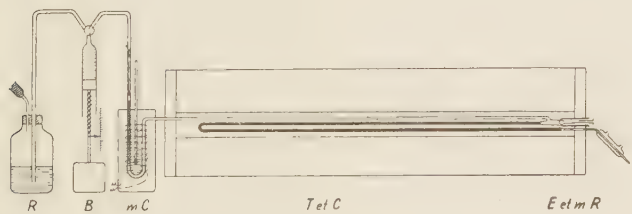


Figure 1 - Appareil pour la chromatographie par entraînement à la vapeur (schéma de montage).

En l'examinant de gauche à droite, on distingue le flacon R servant de réserve au liquide à vaporiser, puis une burette à piston B actionnée par un moteur électrique en vue de l'injection du liquide dans la micro-chaudière mC. A la suite se place la colonne C. enfermée dans son thermostat T. En E et mR on trouve le dispositif d'introduction de l'échantillon et un petit réfrigérant à eau.

Nous étudierons successivement les différentes parties de cet appareillage en exposant dans chaque cas les raisons qui nous ont amené à leur réalisation.

A - DISPOSITIF D'ALIMENTATION EN VAPEUR -

Ce dispositif comprend la réserve de liquide à vaporiser, la burette à injection et son dispositif d'entraînement ainsi que la micro-chaudière assurant la production des vapeurs.

a) La réserve de liquide.

Celle-ci est tout simplement constituée par un flacon de 500 ml de capacité muni d'un bouchon à deux trous. Dans l'un d'eux est introduite une tubulure de verre contenant un tampon de coton destiné à ce qu'aucune poussière ne puisse venir souiller la réserve. Dans le deuxième est placée une canne de verre plongeant dans le liquide qui permettra de prélever le contenu du flacon et de le conduire, par l'intermédiaire d'un tuyau souple, dans la burette à piston.

b) La burette à piston.

L'alimentation de la micro-chaudière en liquide arrivant à un débit constant, contrôlé et reproductible présente un certain nombre de difficultés. Nous avons dû renoncer à utiliser une burette ordinaire munie à sa base d'un robinet et à sa partie supérieure d'un dispositif assurant une pression constante à la surface du liquide. Il s'est avéré à l'usage que le débit nécessité pour une opération chromatographique par entraînement à la vapeur d'eau était tel que les robinets classiques (robinet d'appareil à microdosage de l'azote selon Dumas, robinet à pointeau) ne permettaient d'obtenir des débits reproductibles qu'après de longs tâtonnements. Ils ne permettent pas en cours d'expérience, l'établissement d'un nouveau régime d'une manière pratiquement instantanée. Ces points nous ont fait renoncer également à la mise en œuvre d'un dispositif utilisant un tube capillaire calibré.

Ces considérations nous ont conduit à la conclusion que la seule solution valable consiste à *injecter* le liquide dans la micro-chaudière à l'aide d'un dispositif muni d'un piston. A cet effet, nous avons utilisé une burette basée sur ce principe.

Cette burette est constituée par un tube de verre calibré fixé à la partie supérieure d'un boitier. Le liquide contenu dans la bu-

rette est déplacé au moyen d'un piston de *téflon* actionné par l'intermédiaire d'une transmission mécanique, à l'aide d'un tambour gradué à échelle fine (0,02 ml). Le tambour est constitué par une roue dentée de 7 cm de diamètre et comporte 100 dents. Il se trouve situé à la partie supérieure du boitier dans un plan horizontal. Au-dessous se trouve une échelle grossière (graduée en ml) verticale, munie d'un index mobile, solidaire du piston.

L'extrémité supérieure du tube est munie d'un robinet à deux voies. Une position de la clé sert au remplissage de la burette. Celui-ci se fait, d'une manière pratiquement instantanée en actionnant le bouton servant d'index à l'échelle grossière. Le liquide de la réserve est alors aspiré dans le tube de la burette. La deuxième position de la clé permet au liquide de s'écouler par la manœuvre du tambour gradué.

Nous avons utilisé une burette de 20 ml de capacité. Un tour complet du tambour gradué permet d'évacuer de la burette 2 ml de liquide. Nous avons contrôlé cet appareil en pesant la quantité d'eau écoulée à la température de 20 °C et convertie en ml et en nous référant au volume lu sur la graduation. La précision du dispositif est égale à 0,02 ml pour 1 ml.

c) Mécanisme d'entraînement du tambour gradué.

Mettant à profit la dentelure du tambour gradué, nous l'avons entraîné à l'aide d'une roue dentée identique à celui-ci et dont la rotation est assurée à l'aide d'un moteur synchrone dont l'axe effectue un tour en 20 minutes. Entre la roue dentée entraînante et le moteur, nous avons intercalé une boite à vitesse nous permettant de faire varier d'une manière instantanée la vitesse de rotation du tambour gradué. Le dispositif a été réalisé de telle sorte que la vitesse du tambour gradué corresponde à celle de la rotation de l'axe du moteur ou à une fraction simple de celle-ci. Divers engrenages intermédiaires nous ont également permis d'obtenir des débits de liquide allant de 0,045 ml/mn à 0,12 ml/mn.

Le contrôle de ce dispositif nous a conduit à constater que les débits pouvaient être obtenus avec une précision de ± 1 %.

d) La micro-chaudière.

La micro-chaudière constitue une des pièces fondamentales de notre dispositif. Les essais poursuivis dans sa mise au point nous ont amené à considérer que son fonctionnement correct est lié à un certain nombre de facteurs. Elle doit avoir une forte capacité calorifique, sa température doit être contrôlée, la chambre de vaporisation doit être aussi réduite que possible et conçue de telle sorte qu'aucune condensation de vapeur ne puisse s'y produire.

Le dispositif adopté est schématisé dans la figure n° 2.

Notons tout d'abord que le liquide issu de la burette est in-

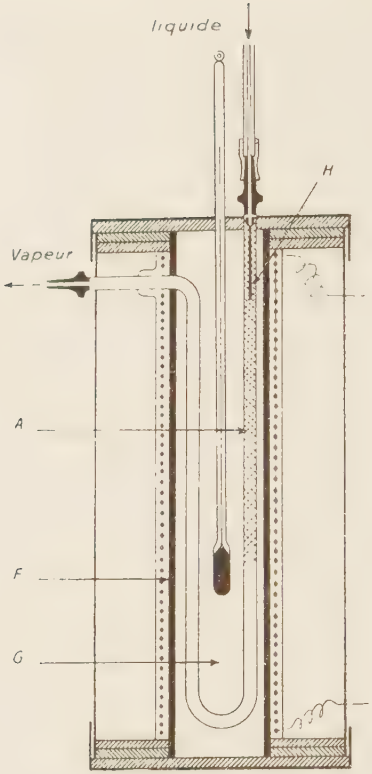


Figure 2 - Micro-chaudière (mC) - Echelle : 4/10.

jecté dans la micro-chaudière par l'intermédiaire d'un tube semi-capillaire (12 cm de long, 0, 5 mm de diamètre intérieur) auquel est adaptée une aiguille hypodermique de 3 cm de long et de 0, 3 mm de diamètre.

La micro-chaudière (mC) est constituée par un tube de cuivre ou d'acier inoxydable de 30 cm de long et de 4 mm de diamètre intérieur coudé en U et placé au centre d'un cylindre de fer F de 17 cm de hauteur et de 2, 5 cm de diamètre, rempli de limaille de cuivre.

Une résistance chauffante (17 mètres de fil de nickel chrome offrant une résistance de 35 Ohms par mètre : (220 V.) est bobinée

sur une gaine de carton d'amiante qui recouvre le tube de fer. Une deuxième gaine sert d'isolant. L'ensemble est placé dans une boite métallique bourrée de laine de verre. Par l'orifice d'entrée du tube en U, on introduit un rouleau A de fine toile métallique au centre duquel est piquée l'aiguille hypodermique H. Ce dispositif est indispensable pour répartir le liquide sur une grande surface et éviter sa chute en gouttes, ce qui conduirait à des irrégularités inacceptables du courant de vapeur.

La jonction entre le tube métallique en U et celui d'arrivée du liquide (en verre) est assurée par un tuyau de silicone souple, résistant à la température de 250 °C. A l'orifice de sortie des vapeurs est soudé un embout métallique pour recevoir le joint souple de silicone qui conduira les vapeurs à la colonne.

L'intensité du chauffage est réglée par un régulateur à impulsion qui permet d'obtenir la température choisie avec une précision de ± 2 °C. Un thermomètre plongé dans la poudre de cuivre permet de connaître à tout instant la température de fonctionnement de la micro-chaudière (soit par exemple 150 °C pour volatiliser l'eau et 130 °C pour volatiliser l'éthanol). Ce dispositif permet d'obtenir un courant régulier de vapeur sèche.

B - LA COLONNE A CHROMATOGRAPHIE -

Elle comporte le tube à chromatographie proprement dit, le dispositif d'introduction de l'échantillon à l'entrée du tube, à sa sortie le condenseur des vapeurs, et en outre le thermostat.

a) Le tube à chromatographie.

Nous avons tout d'abord réalisé des colonnes constituées par des tubes de verre en U de 2 à 3 mètres de long. A l'usage ces dispositifs se sont avérés trop fragiles d'une part et d'autre part nécessitent la construction de thermostats trop importants pour que l'on puisse être assuré d'obtenir sur toute leur longueur une température uniforme. Aussi avons-nous utilisé des éléments de colonne qui sont réunis, après leur remplissage par la phase stationnaire, à l'aide de joints de tuyau souple de silicone convenablement ligaturés. L'ensemble, présentant alors un minimum d'encombrement peut être fixé sur un support métallique et introduit facilement dans le thermostat, dont l'enceinte est aussi réduite que possible.

Nous avons adopté pour la colonne une position horizontale ; en effet, placé verticalement le dispositif peut présenter des différences de température entre le haut et le bas pouvant atteindre quelques degrés.

Le tube à chromatographie est constitué par des éléments de tubes de verre en U de 8 mm de diamètre intérieur et de 75 cm de

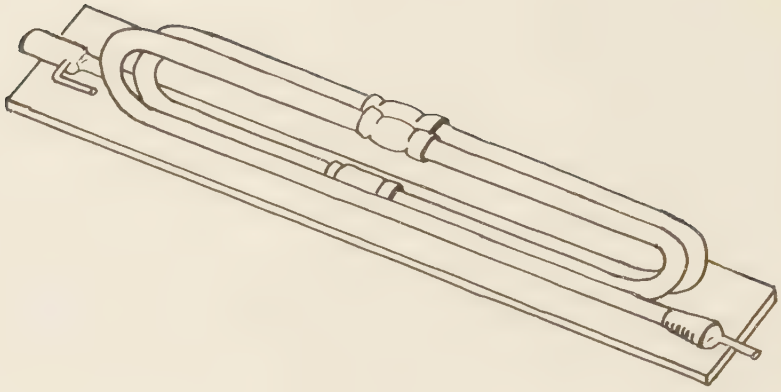


Figure 3 - Schéma de montage de la colonne sur son support métallique.

long. Deux éléments ont une forme différente. Le premier, qui constitue la partie terminale de la colonne, est un tube de verre en forme de U dont une branche a une longueur de 75 cm alors que l'autre n'a que 37,5 cm de long. A l'extrémité de la branche la plus importante se trouve fixé un rodage femelle. La partie mâle qui s'y adapte est soudée à un tube semi-capillaire de 0,5 cm de diamètre intérieur et de 5 cm de long. Le deuxième tube de dimensions analogues est muni à son extrémité soit du dispositif d'introduction de l'échantillon et d'un tube semi-capillaire permettant l'arrivée des vapeurs provenant de la micro-chaudière, soit relié uniquement à celle-ci par l'intermédiaire d'un tube semi-capillaire et d'un joint souple en silicone.

b) Dispositifs d'introduction de l'échantillon.

Deux dispositifs ont été utilisés. Le premier est lié directement à la colonne et constitue, en fait, un élargissement de celle-ci. Son extrémité est obturée à l'aide d'un bouchon rodé dont la manœuvre permet d'introduire l'échantillon, lequel est déposé dans une micro-nacelle. Le second nécessite une légère modification du montage : il se trouve en effet situé *avant* la micro-chaudière, celle-ci étant liée par un joint aussi court que possible à une extrémité du tube à chromatographie.

1) 1er dispositif.

Il est représenté schématiquement par la figure n° 4. Il est constitué par un tube de verre de 5 cm de long et de 12 mm de diamètre intérieur. Un ajutage latéral constitué par un tube semi-capillaire amène les vapeurs provenant de la micro-chaudière par l'intermédiaire d'un tuyau de silicone qui parcourt le thermostat afin que les vapeurs puissent s'équilibrer avec la température de

Figure 4 - Premier dispositif d'introduction de l'échantillon (tête de colonne) (E).

celui-ci. Un bouchon rodé est adapté à l'autre extrémité de cette enceinte. Le rodage est situé au fond d'une gaine de verre de 8 cm de longueur.

Le bouchon est prolongé d'une part, par un tube muni d'ailettes et d'autre part, par un prolongement creux de 4 cm de long destiné à supporter la micro-nacelle. Cette dernière est en platine, elle possède une forme allongée (10 mm de long et 3 mm de large) et est peu profonde (3 mm). Elle est garnie en son fond d'une petite quantité d'amiante en fibres. La prise d'essai est placée dans la nacelle, on retire rapidement le bouchon rodé, la nacelle est mise sur son support ; on replace le bouchon rodé et on le maintient à l'aide d'un ressort.

2) 2ème dispositif.

Le montage est réalisé selon le schéma de la figure n° 5.

Le dispositif consiste à intercaller un robinet dont le boisseau

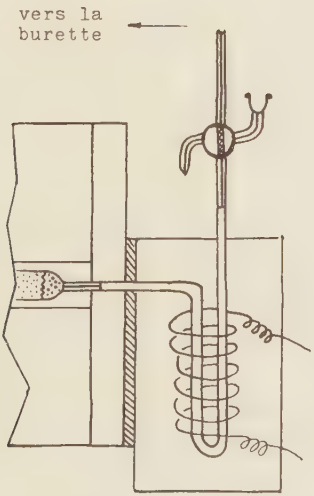


Figure 5 - Deuxième dispositif d'introduction de l'échantillon (Robinet à 4 voies). (Schéma de montage).

porte quatre tubes semi-capillaires en croix, sur le trajet qui va de la burette à la micro-chaudière. La clé du robinet ne comporte qu'une voie. Celle-ci est jaugée. Son volume est déterminé en pesant la quantité de mercure qu'elle peut contenir.

Lorsque la clé est en position verticale la micro-chaudière est alimentée. Lorsque la voie est horizontale le flux du liquide est interrompu et celui-ci est alors dirigé vers la réserve en modifiant la position de la clé du robinet de la burette *à piston.*

Le système constitué par les tubes semi-capillaires horizontaux et la voie de la clé du robinet est rempli de la solution des substances à chromatographier. On fait effectuer à la clé un quart de tour, et immédiatement on place la clé du robinet de la burette à piston dans sa position initiale. Le liquide *pousse* alors la prise d'essai, pratiquement sans diffusion notable, dans la micro-chaudière où ses constituants seront volatilisés au sein de la vapeur.

Ces deux dispositifs conduisent à des résultats comparables. Ils présentent chacun des avantages et des inconvénients qui dictent leur choix.

L'emploi de la micro-nacelle permet la mise en œuvre de prises d'essai de volumes variables et de récupérer en fin de chromatographie un éventuel résidu fixe abandonné par la prise d'essai. On peut également effectuer des micro-réactions dans la nacelle; par contre au moment de l'ouverture du dispositif, une certaine quantité d'air pénètre dans la colonne et on peut considérer comme nuisible l'introduction d'une masse froide au sein du thermostat.

L'usage du robinet à deux voies est d'une manipulation rapide, commode, évite toute entrée d'air et toute cause de refroidissement. Par contre, il assujettit l'expérimentateur à la mise en œuvre d'une prise d'essai d'un volume fixe et rend impossible la détermination dans celle-ci d'un éventuel résidu.

c) Le thermostat.

Celui-ci est constitué d'un tunnel parallélépipédique en tôle galvanisée, de 95 cm de long et ayant une section de 10 cm × 5 cm. Il est habillé sur sa face externe par du carton d'amiante portant une résistance bobinée de fil de nickel chrome de 35 mètres de long (5 Ohms/mètre, pour 220 v). Une deuxième épaisseur d'amiante assure l'isolement électrique. Le tout est enfermé dans un coffre en bois de 95 cm de long et de 30 cm × 30 cm de section. L'espace vide délimité par le tunnel et les parois du coffre est empli de laine de verre qui assurera l'isolement thermique. Le tunnel est obturé à ses deux extrémités par des flasques de bois amovibles protégées sur leurs faces internes par du carton d'amiante. Des passages sont ménagés dans les flasques pour effectuer les connexions entre la colonne et les dispositifs de production et de condensation des vapeurs.

Une ouverture est ménagée dans une flasque pour introduire un thermomètre *à contact* destiné à régler la température du thermostat en liaison avec un relai électromagnétique. Le thermomètre permet d'obtenir des températures comprises entre 80 °C et 180 °C avec une précision de ± 1 °C.

Il est avantageux de disposer de deux régimes de chauffage ce qui peut être assuré au moyen d'une prise de courant soudée au milieu de la résistance. Grâce à un commutateur on utilise soit les deux moitiés de la résistance en parallèle (chauffage rapide - mise en service), soit toute la longueur du fil (chauffage d'entretien de l'appareil en fonctionnement).

d) Le micro-réfrigérant.

Celui-ci est constitué par un tube semi-capillaire de 0, 5 mm de diamètre intérieur et de 15 cm de long. Il est entouré d'une gaine de verre munie de deux petites tubulures latérales permettant la circulation d'un courant d'eau froide.

2 - FONCTIONNEMENT DE L'APPAREIL -

Il faut envisager maintenant le montage et le fonctionnement de notre dispositif.

Les tubes de verre doivent être convenablement garnis de la phase stationnaire : pour cela on introduit les grains par portions successives, et on tasse régulièrement, après chaque addition, au moyen d'une tige en bois. Les éléments sont assemblés par des joints de tuyau de silicone de telle sorte que les tubes de verre soient mis "bout à bout". Il faut assurer au dispositif une parfaite étanchéité. Aussi préconisons-nous de consolider les joints par un enroulement de fine toile métallique sur lequel on dispose des anneaux de fils de cuivre solidement torsadés. L'ensemble est fixé sur un support métallique afin d'être facilement introduit dans le thermostat. Les flasques sont adaptées sur les faces de celui-ci à l'aide de boulons à oreilles se vissant sur des goujons filetés.

On assure les connexions entre la tête de la colonne et la micro-chaudière d'une part, et d'autre part entre la sortie de la colonne et le micro-réfrigérant. Nous insisterons sur le fait que cette dernière connexion doit être la plus courte possible, le rendement du dispositif dépendant en grande partie de la réduction des espaces morts en ce point.

On assure le chauffage du thermostat, d'abord avec le chauffage puissant, puis avec le chauffage d'entretien. L'équilibre des températures est généralement obtenu après trois à quatre heures de fonctionnement. Avant d'entreprendre une chromatographie avec un chargement neuf il convient d'effectuer un balayage de la colonne en faisant passer un courant de vapeur à débit rapide pendant 6 heures environ.

Une analyse chromatographique consiste, lorsque la température du thermostat est équilibrée, à porter la micro-chaudière à une température convenable. Celle-ci doit être environ de 10 °C à 30 °C supérieure à celle du thermostat lorsque la micro-chaudière est alimentée (150 °C pour l'eau, 130 °C pour l'éthanol). Le flux de liquide étant assuré on introduit, à l'aide de l'un des deux dispositifs décrits, la prise d'essai à analyser en solution alcoolique. Lorsque la micro-nacelle est utilisée le volume de la prise d'essai peut être compris entre 10 et 50 µ l, par contre l'emploi du robinet conduit à une prise d'essai fixe qui est de l'ordre de 25 µ l.

On recueille l'effluent condensé par le micro-réfrigérant à l'aide d'un collecteur de fractions changeant de réceptacle pour des intervalles de temps égaux. Nous avons disposé d'un appareil permettant d'effectuer des fractionnements toutes les deux, trois, six ou dix minutes. On obtiendra de fines gouttes de liquide (0,01 ml environ) en faisant adhérer à l'extrémité du réfrigérant une languette de papier filtre ayant la forme d'un triangle isocèle très aigu. Chaque fraction de distillat sera analysée par un procédé approprié.

Il est évident que le résultat de la chromatographie dépend en grande partie de la perfection du dispositif utilisé. Aucune zone froide ne doit se trouver sur le parcours des vapeurs ce qui entraînerait des condensations de celles-ci et conduirait à des irrégularités dans le cheminement des solutés.

Il est indispensable d'assurer un débit de vapeur rigoureusement constant. Nous donnons à titre d'exemple dans le tableau I des déterminations relatives à des contrôles effectués dans le but de vérifier la constance des volumes des fractions recueillies dans des intervalles de temps déterminés et pour différents débits. Pour cela nous avons pesé la quantité d'eau récupérée dans chaque fraction et convertie en centimètre-cube.

L'examen du tableau n° I montre que pour l'ensemble du dispositif le débit est pratiquement constant. L'erreur relative sur le volume récupéré dans une fraction est de l'ordre de ± 6 %.

Tableau n° 1

Contrôle du volume des fractions recueillies à la sortie de l'appareil à chromatographie à des intervalles de temps déterminés et pour des débits donnés

Expérience n° 1 - débit : 0,10 ml d'eau par minute
Fractions recueillies en 3 minutes.

Essai n°	Volume (en ml)	Essai n°	Volume (en ml)
1	0,298	7	0,282
2	0,294	8	0,270
3	0,306	9	0,308
4	0,280	10	0,310
5	0,307	11	0,270
6	0,290	12	0,285

Volume débité (lu sur la burette) : 0,300 ml
Volume récupéré dans une fraction : 0,292 ml (± 0,022)
Erreur relative sur la quantité récupérée : ± 6 %

Expérience n° 2 - débit : 0,08 ml d'eau par minute.
Fractions recueillies en 2 minutes.

Essai n°	Volume (en ml)	Essai n°	Volume (en ml)
1	0,164	8	0,166
2	0,155	9	0,160
3	0,161	10	0,167
4	0,168	11	0,154
5	0,162	12	0,157
6	0,167	13	0,160
7	0,165	14	0,158

Volume débité (lu sur la burette) : 0,160 ml
Volume récupéré dans une fraction : 0,161 ml ± 0,007 ml
Erreur relative sur la quantité récupérée : ± 4 %

Expérience n° 3 - débit : 0,045 ml d'eau par minute.
Fractions recueillies en 3 minutes.

Essai n°	Volume (en ml)	Essai n°	Volume (en ml)
1	0,139	7	0,139
2	0,134	8	0,139
3	0,126	9	0,129
4	0,131	10	0,131
5	0,139	11	0,129
6	0,135	12	0,139

Volume débité (lu sur la burette) : 0,135 ml
Volume récupéré dans une fraction : 0,134 ml ± 0,008 ml
Erreur relative sur la quantité récupérée : ± 6 %.

3 - DISCUSSION -

L'appareillage que nous venons de décrire va nous permettre d'étudier le comportement chromatographique par entraînement par les vapeurs d'un assez grand nombre de composés organiques. Comme nous nous l'étions proposé, il est de construction simple, peu onéreux et de manipulation aisée. La réalisation du thermostat et de la colonne sont classiques. Notre dispositif permet d'obtenir une gamme étendue de température.

Il est possible d'utiliser des colonnes de longueurs variables (de 1 m à 6 m), pour un même thermostat. La colonne est facilement accessible et ne présente aucune difficulté de manipulation.

Deux dispositifs d'introduction ont été proposés. Ils conduisent à des résultats analogues. Cependant l'utilisation du robinet à voie jaugée est préférable dans le domaine de l'analyse quantitative. Une plus grande précision est obtenue dans la détermination du volume de l'échantillon introduit dans la colonne.

Nous attirons l'attention sur la construction du dispositif d'alimentation de la micro-chaudière et sur la micro-chaudière elle-même. Ces deux parties sont fondamentales. On doit apporter le plus grand soin à leur montage car d'eux dépend la qualité des résultats analytiques.

Nous retiendrons qu'à tout instant on peut connaître par une simple lecture sur les graduations de la burette, le volume de liquide vaporisé, donc la masse de vapeur ayant traversé la colonne. Ceci permet une expression directe des volumes de rétention.

Les résultats contenus dans le tableau n° I montrent que pour l'ensemble du dispositif le débit est pratiquement constant. Néanmoins nous sommes limité dans l'emploi des débits faibles à une valeur égale à 0,042 ml de liquide vaporisé par minute. En effet l'erreur relative sur le volume recueilli dans les fractions, croît pour des débits plus faibles et devient prohibitive.

Nous soulignerons également que notre dispositif permet de récupérer les substances chromatographiées en solution après condensation de l'effluent. Des réactions analytiques peuvent alors être réalisées sur chaque fraction et conduire au dosage et à l'identification des solutés. La récupération de ceux-ci à l'aide d'un dispositif simple semble, à notre avis, une des possibilités intéressantes de la technique que nous proposons.

Enfin, comme le montrerons nos résultats expérimentaux, l'appareillage proposé conduit à des résultats reproductibles.

II - MATERIAUX ET TECHNIQUES

A - LES PHASES STATIONNAIRES -

Nous appellerons, par analogie avec la chromatographie en phase gazeuse, phase stationnaire le support inerte imprégné de la phase liquide. Nous utiliserons au cours de notre travail trois phases liquides : le glycérol, le cholestérol et une graisse de silicone. Nous décrirons maintenant la préparation des différentes phases que nous avons mises en œuvre, ainsi que celle du support inerte employé.

a) Le support inerte.

Au cours de nos expériences préliminaires nous avons étudié la possibilité d'utiliser divers supports commerciaux (Silocel C-22, Shandon 30-60 mesh et 60-72 mesh). Ces supports ne nous ont pas donné satisfaction car ils sont constitués de grains trop fins et offrent de ce fait une résistance trop grande au passage des vapeurs.

Nous avons préparé nous-même le support en pulvérisant une brique réfractaire (1). Le produit obtenu est tamisé, et nous n'en avons gardé que les grains ayant un diamètre compris entre 350 μ et 500 μ . Ce granulé de brique est lavé abondamment à l'eau distillée, par décantation, afin d'éliminer toutes les poussières, puis nous avons mis le granulé de brique en contact avec son volume d'acide chlorhydrique concentré pendant 6 heures. Au bout de ce temps le granulé est de nouveau lavé à l'eau distillée jusqu'à ce que les eaux de lavage soient neutres, traité trois fois avec de l'éthanol, essoré et séché, pendant 14 heures à l'étuve à 120 °C.

b) Les phases liquides (2).

Nous avons utilisé trois phases liquides. La première est le glycérol (glycérol bidistillé, Prolabo R. P., d = 1, 26) la seconde est le cholestérol (Hoffman - La Roche) ; la troisième est constituée par la graisse de silicone (SISS, SI pour vide Saint Gobain) traitée selon Kreyenbuhl et Weiss (30), c'est-à-dire débarrassée de l'insoluble dans l'éther de pétrole (35° - 70°).

c) Préparations des phases stationnaires.

Un poids *p* de phase liquide est dissous dans un volume convenable de solvant approprié (respectivement de l'éthanol pour le glycérol, le cyclohexane pour le cholestérol, l'éther de pétrole pour

---

(1) Brique R. 15 de la Société des produits réfractaires Famel et Libos, 15 Rue de Milan, Paris Xème.

(2) Le benzyl-diphényl, le di-n-octylphtalate et le di-n-nonylphtalate ne peuvent être utilisés car ils sont soit entraînables soit décomposés en présence de vapeurs d'eau ou d'éthanol.

la graisse de silicone). Cette solution est placée dans un bécher de forme haute de 1 000 ml de capacité. Tout en agitant, on verse par petites portions, le granulé de brique. Le solvant est évaporé au bain-marie en prenant les précautions d'usage. Lorsque la phase présente un aspect de granulé sec, elle est placée sur des plaques de verre et séchée pendant 14 heures à l'étuve à 120 °C. Elle est alors prête à être utilisée.

B - LES VAPEURS D'ENTRAINEMENT -

Deux vapeurs d'entraînement ont été employées. La première est obtenue par la vaporisation de l'eau bidistillée, la seconde par celle de l'éthanol à 95°.

On sait (48) que la vapeur d'eau à 100 °C occupe un volume 1696 fois plus grand que le volume d'eau qui lui a donné naissance. On peut admettre en première approximation qu'un centimètre-cube d'éthanol (à 15 °C) vaporisé occupe à 100 °C un volume de 520 ml. Les débits de vapeurs que nous avons le plus souvent utilisés peuvent donc être estimés en fonction des débits de liquides voisins de :

pour 0,005 ml/mn : 84,8 ml de vapeur d'eau ou 26 ml de vapeur d'éthanol (à 100 °C).

pour 0,075 ml/mn : 127,2 ml de vapeur d'eau ou 39 ml de vapeur d'éthanol (à 100 °C).

pour 0,10 ml/mn : 169,6 ml de vapeur d'eau et 52 ml de vapeur d'éthanol (à 100 °C).

Rappelons, à titre de comparaison, que les débits de gaz les plus couramment mis en œuvre en chromatographie gaz-liquide varient de 50 à 500 ml de gaz par minute.

C - TECHNIQUES UTILISEES POUR L'ANALYSE DES EFFLUENTS -

L'analyse des fractions recueillies au cours des opérations chromatographiques a été effectuée, en règle générale par spectrophotométrie en lumière ultra-violette. Les phénols ont été également dosés à l'aide de la très sensible méthode de Folin et Ciocalteu.

a) Spectrophotométrie en lumière ultra-violette.

Les déterminations ont été effectuées à l'aide du spectrophotomètre "Graphi-spectral Jouan", dans des cuves de quartz de 10 mm d'épaisseur à faces parallèles. Nous avons établi pour chaque substance son spectre d'absorption en solution (solution aqueuse ou alcoolique). Ces documents nous ont permis de vérifier la pureté de nos échantillons en les comparant avec les données relevées dans la littérature. Ils nous ont donné la possibilité de fixer la longueur d'onde pour laquelle la substance considérée présente une absorption optimum.

Les fractions recueillies au cours d'une chromatographie ont été portées à un même volume (2,5 - 5 ou 10 ml) à l'aide du solvant correspondant à la vapeur utilisée (eau ou éthanol). L'absorption lumineuse (exprimée en densité optique) de chaque liqueur a été déterminée pour les longueurs d'onde optima d'absorption des substances présentes dans la prise d'essai. Nous avons établi, pour les fractions correspondant au maximum de concentration d'un soluté, le spectre d'absorption de la liqueur, afin de caractériser la substance et de vérifier qu'aucune altération ne survenait au cours des séparations chromatographiques.

Les résultats relatifs à une chromatographie sont exprimés sous forme de graphique en portant en ordonnées l'absorption (en D.O.) et en abscisses les temps correspondant à chacune des fractions recueillies. Nous avons également porté en abscisses les volumes de phase mobile (exprimés en ml de liquide vaporisé).

Les déterminations quantitatives ont été réalisées en établissant des courbes d'étalonnage, relatives à chaque substance étudiée, à partir de solutions de titre connu.

b) Dosage colorimétrique (cas des phénols).

Nous avons fait appel à la très sensible méthode de Folin et Ciocalteu (11) que nous avons adaptée à nos besoins. Nous rappelons qu'elle est basée sur la détermination de la coloration donnée par la réaction des phénols avec l'acide phospho-18-molybdotungstique.

La composition des réactifs ainsi que leur préparation sont les suivantes :

- Réactif de Folin et Ciocalteu.

Dans un ballon rodé à fond rond, de 750 ml de capacité on place :

- tungstate de sodium ..... 20 g
- molybdate de sodium ..... 5 g

On fait dissoudre dans 140 ml d'eau distillée, on ajoute à la solution précédente :

- acide phosphorique (d = 1,71) ..... 10 ml
- acide chlorhydrique (d = 1,19) ..... 20 ml

On chauffe à l'ébullition, le ballon étant muni d'un réfrigérant pendant 10 heures. On ajoute alors :

- sulfate de lithium ..... 30 g
- eau distillée ..... 10 ml
- brome (quelques gouttes pour obtenir une coloration jaune).

On porte à nouveau à l'ébullition, à l'air libre, pendant 15 minutes, pour chasser le brome en excès. On amène la liqueur à un volume égal à 200 ml au moyen d'eau distillée. Cette solution est conservée dans un flacon bien bouché (émeri), coloré en brun et placé à l'abri de la lumière. Le réactif doit être jaune, s'il était vert c'est qu'il contiendrait des produits de réduction qu'on peut oxyder à nouveau en faisant bouillir le réactif en présence de brome.

- Solution de carbonate de soude.

Elle est constituée par une solution aqueuse de 5 g de carbonate de sodium (sel anhydre) pour 100 ml.

Mode opératoire.

On place dans chaque tube contenant une fraction résultant d'une chromatographie, 5 ml de solution de carbonate de sodium. Après avoir homogénéisé, on ajoute 0,5 ml du réactif de Folin et Ciocalteu. On mélange. On attend 30 minutes afin que la coloration ait atteint son développement maximum. Son intensité d'absorption est déterminée au spectrophotomètre, en cuve de 10 mm d'apaisseur et pour une longueur d'onde : 750 mμ. On réalise un témoin dans lequel la prise d'essai se trouve remplacée par un égal volume d'eau distillée.

Il est nécessaire d'établir une courbe d'étalonnage pour chaque substance étudiée à partir de solutions de titres connus. Elle permet de doser de 5 à 50 μg de phénols avec une précision de ± 2 %.

Les déterminations étant établies en densité optique, nos résultats seront exprimés selon les mêmes modalités que précédemment.

D - COMPOSES AROMATIQUES SOUMIS A L'ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE -

Nous avons, en règle générale, utilisé des produits d'origine commerciale (Prolabo, Merck) convenablement purifiés. Cependant nous avons dû préparer par synthèse les éthers méthyliques des phénols et isoler de l'isoeugénol commercial les deux isomères *cis* et *trans*.

La synthèse des éthers méthyliques a été réalisée selon Gattermann (13) par action du sulfate de diméthyle sur les phénols en milieu alcalin. Les dérivés isolés ont été purifiés et caractérisés au moyen des procédés classiques de la Chimie Organique.

La séparation du *cis* et du *trans* isoeugénol à partir du produit commercial a été effectuée selon les indications de Boedecker et Volck (1).

Les spectres d'absorption en lumière ultra-violette ont été établis pour chaque substance et se sont trouvés en parfait accord avec les données relevées dans la littérature.

CHAPITRE III

ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ, DU POUVOIR DE RÉSOLUTION ET DU POUVOIR DE SÉPARATION DE NOTRE APPAREILLAGE EN FONCTION DE DIVERS FACTEURS

La séparation des phénols a été prise comme thème de cette étude. Nous avons fait porter nos recherches sur les principaux facteurs qui entrent en jeu pendant les opérations chromatographiques, à savoir :

- proportion et nature de la phase liquide entrant dans la composition de la phase stationnaire.
- longueur du tube de la colonne.
- température de fonctionnement du dispositif.
- débit et nature du liquide producteur de la vapeur.

Par ailleurs, nous avons considéré le comportement de quantités différentes d'un même soluté, en ce qui concerne son volume de rétention et l'allure de son *pic* d'émergence. A cette occasion, nous donnons des résultats d'ordre quantitatif obtenus à la suite d'expériences faites dans le but de mettre en évidence la possibilité de réaliser de véritables dosages par notre méthode. Ces données nous étaient indispensables pour fixer les meilleures conditions opératoires à adopter afin de conférer à notre technique un caractère d'application général.

Pour chaque document, nous indiquerons les conditions expérimentales de l'analyse chromatographique, en utilisant les symboles correspondant aux définitions suivantes :

(X : µg, mµ.) : placé à la suite du nom d'une substance X indique le poids de la prise d'essai et la longueur d'onde (U. V.) choisie pour sa détermination dans l'effluent.

(D : ml/mn) : indique la nature de la vapeur (eau ou éthanol) ainsi que le volume (en ml) de cette substance volatilisée dans une minute.

(St : %) : indique la nature du constituant de la phase stationnaire (graisse de silicone, glycérol, cholestérol) ainsi que la proportion dans celle-ci (en g de phase liquide pour 100 g de granulé de brique (1).

L : Longueur du tube de la colonne.

T °C : Température du thermostat.

t : Durée pendant laquelle une fraction de l'effluent est recueillie (en mn).

Dans les cas où les dosages ont été effectués par la méthode colorimétrique de Folin et Ciocalteu, cette donnée sera mentionnée.

A - INFLUENCE DE LA QUANTITE ET DE LA NATURE DE LA PHASE LIQUIDE ENTRANT DANS LA COMPOSITION DE LA PHASE STATIONNAIRE -

a) Influence de la proportion de phase liquide.

Nous avons employé, comme il a été mentionné au cours du chapitre précédent (voir p. 35) trois phases, à savoir le glycérol, le cholestérol et une graisse de silicone. Des expériences préliminaires nous ont montré toute l'importance que l'on doit accorder à la proportion de phase liquide entrant dans la composition de la phase stationnaire sur l'efficacité et le pouvoir de résolution d'une colonne.

Prenons pour exemple les résultats obtenus par la mise en œuvre de phases contenant des proportions diverses de glycérol : 30 g, 40 g, et 50 g pour 100 g de granulé de brique à la suite de la chromatographie d'un mélange de thymol eugénol, *p*.crésol et 2,4-xylénol. Ces expériences effectuées sur des colonnes de 3 m de long, de 0,8 cm de diamètre, à la température de 140 °C et pour des débits correspondant à la vaporisation de 0,062 ml d'eau par minute, nous ont conduit aux chromatographies représentées dans la figure n° 6.

De l'examen de la figure n° 6 il ressort qu'une teneur de la phase stationnaire de 30 % en glycérol permet déjà d'obtenir une séparation satisfaisante des phénols mis en œuvre. Une amélioration résulte de l'emploi d'un taux supérieur de glycérol (40 %). On voit, en effet, que les volumes de rétention augmentent avec la teneur

---

(1) Nous avons adopté pour préciser la quantité de *solvant* entrant dans la composition de la *phase fixe*, le nombre de parties en poids de *liquide* pour 100 parties de *support inerte*, selon le mode le plus répandu à l'heure actuelle (P. Chovin (5)).

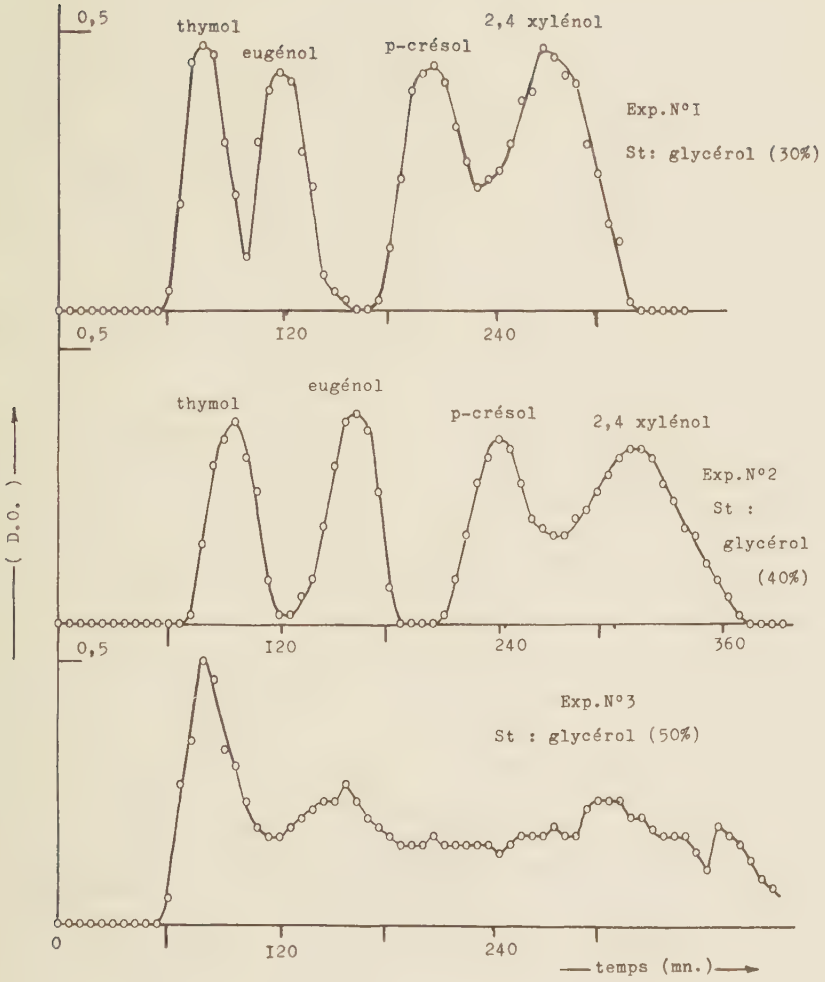


Figure 6 - Etude de l'influence de la phase stationnaire : emploi de quantités variables de glycérol. Chromatographies d'un mélange de thymol (200 µg), d'eugénol (154 µg), de *p*. crésol (200 µg) et de 2,4-xylénol (300 µ g), (D : eau : 0,062 ml/mn, St : 1ère expérience : glycérol (30 %) - 2ème expérience : glycérol (40 %) - 3ème expérience : glycérol (50 %) - L : 3 m ; T : 140 °C ; t : 6 mn), (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).

en phase liquide et passent respectivement dans le cas du thymol et de l'eugénol de 4,94 ml et 8,18 ml au cours du premier essai à 5,95 ml et 9,64 ml au cours du second. Ceci s'accompagne évidemment d'une augmentation de la durée de l'expérience.

L'amélioration consécutive à l'emploi de la phase stationnaire la plus riche se traduit également par l'obtention de *pics* plus larges mais mieux différenciés. Ainsi les *pics* correspondant au thymol et à l'eugénol empiètent l'un sur l'autre lorsque la teneur de la phase fixe est de 30 % en glycérol mais deviennent distincts quand la proportion de glycérol s'élève à 40 %. Il en est de même pour les séparations de l'eugénol et du *p.*crésol d'une part, du *p.*crésol et du 2,4-xylénol de l'autre, qui sont plus satisfaisantes lorsque la phase stationnaire est plus riche en phase liquide.

Par contre l'aspect du chromatogramme est complètement brouillé si l'on adopte une teneur de 50 % en glycérol.

Ces expériences nous ont conduit à adopter au cours de nos recherches une phase constituée de 40 % de glycérol.

Des recherches de même nature ont été réalisées avec le cholestérol. Dans la figure n° 7 se trouvent les résultats relatifs à la séparation du phénol, du *p.*crésol, et du 2,4-xylénol sur des phases stationnaires contenant des proportions différentes de cholestérol (1ère expérience (schéma 1), St : cholestérol : 5 % - 2ème expérience (schéma 2), St : cholestérol : 7,5 %).

Ces chromatographies ont été effectuées à l'aide d'une colonne de 3 m de long à une température de 156 °C et pour un débit de vapeur correspondant à la volatilisation de 0,05 ml d'eau par minute.

L'examen de la figure n° 7 montre que l'efficacité et le pouvoir de résolution augmentent avec la proportion de cholestérol dans la phase fixe. L'utilisation d'une phase ayant une teneur de 7,5 % conduit à une séparation totale du phénol et du *p.*crésol, sans toutefois permettre une séparation plus notable de ce dernier composé et du 2,4-xylénol, cette dernière était déjà parfaitement satisfaisante avec la phase stationnaire dont la proportion en cholestérol n'était que de 5 %. Pour des teneurs égales ou supérieures à 10 % les chromatographies deviennent impraticables, et il nous a paru inutile de présenter, ici, les documents correspondants qui sont sans intérêt. Une teneur de 7,5 % en cholestérol a été adoptée au cours de nos recherches.

Par conséquent, ces expériences montrent qu'il existe une proportion de liquide dans la phase stationnaire que l'on peut qualifier d'optimum, en ce sens qu'elle permet les meilleurs résultats analytiques. Nous devons donc considérer comme indispensable chaque fois que l'on se trouve en présence d'une phase liquide nouvelle, d'effectuer la détermination de cette valeur optimum. C'est une étude de ce type qui nous a amené à adopter pour la graisse

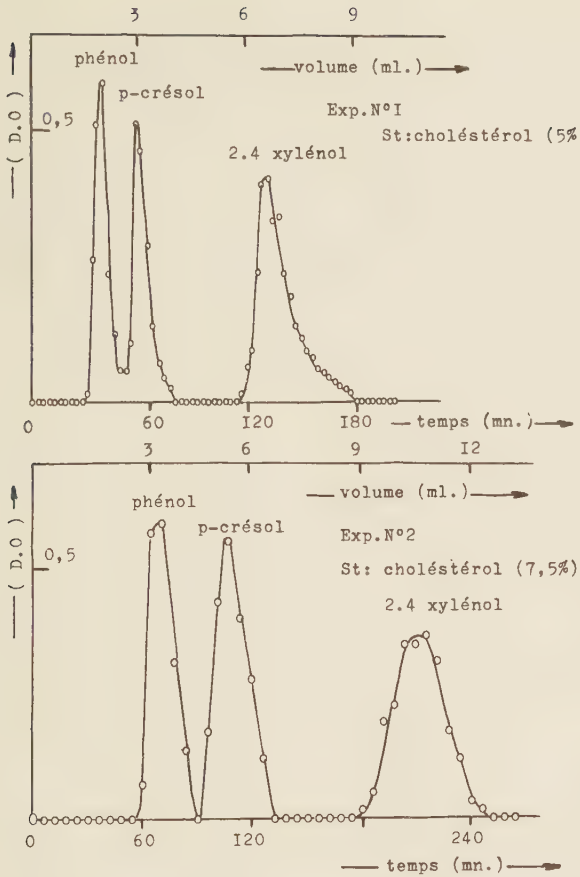


Figure 7 - Etude de l'influence de la phase stationnaire : emploi de quantités variables de cholestérol. - Chromatographies d'un mélange de phénol (50 µg) de *p.*crésol (100 µg), et de 2,4-xylénol (200 µg). (D : 0,05 ml/mn, eau : St : 1ère expérience : cholestérol (5 %), t : 3 mn ; 2ème expérience : cholestérol (7,5 %), t : 6 mn - T : 156 °C ; L : 3 m) ; (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).

de silicone, une proportion de 15 % dans la composition de la phase stationnaire.

b) Influence de la nature de la phase liquide : pouvoir de séparation.

L'ensemble des recherches que nous venons d'exposer nous a permis de fixer pour les trois phases liquides, dont nous envisageons l'utilisation, une composition définie de la phase stationnaire correspondante. Nous avons pu aborder alors l'étude comparative du comportement chromatographique des neuf phénols les plus courants, à savoir : le phénol, l'*ortho*, le *méta* et le *para*-crésol, le

2,4-xylénol, le thymol, le carvacrol, l'eugénol et le gaïacol, sur les trois phases stationnaires constituées respectivement de 40 g de glycérol, 7,5 g de cholestérol et 15 g de graisse de silicone pour 100 g de granulé de brique, la vapeur étant la vapeur d'eau.

Examinons tout d'abord les résultats obtenus à l'aide du glycérol utilisé en tant que phase liquide. Les chromatographies ont été effectuées à l'aide d'un tube de 3 mètres, la température étant de 140 °C, le débit de 0,052 ml/mn d'eau. Les résultats des expériences correspondant aux chromatographies de chacun des phénols étudiés sont rassemblées sous forme de schéma dans la figure n° 8.

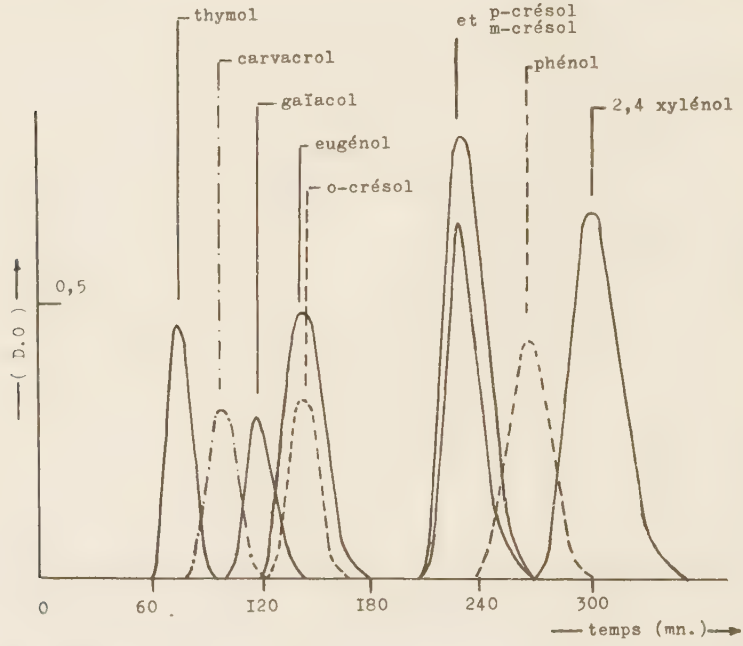


Figure 8 - Etude de l'influence de la nature de la phase liquide : emploi du glycérol - Carvacrol (220 µg), *o*.crésol (200 µg) phénol (200 µg), *m*.crésol (200 µg), thymol (200 µg), gaïacol (100 µg), eugénol (154 µg), *p*.crésol (200 µg) et 2,4-xylénol (300 µg), chromatographiés séparément (D : eau : 0,062 ml/mn ; St : glycérol : 40 %) ; L : 3 m ; T : 140 °C ; t : 6 mn) (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).

L'examen de la figure n° 8 montre que la phase stationnaire constituée de 40 % de glycérol conduit à des chromatographies correctes des différents phénols étudiés. Elle permet l'identification des composés de mélanges constitués par exemple soit du carvacrol, de l'*ortho*-crésol, du *para*-crésol et du phénol, soit du thymol, du gaïacol, de l'eugénol, du *méta*-crésol et du 2,4-xylénol. Elle permet, également, de montrer la présence du carvacrol à côté du thymol. Néan-

moins, certaines séparations ne peuvent être effectuées. Ainsi celle de l'eugénol et de l'*ortho*-crésol ou encore du *para*-crésol et de son isomère *méta*. De même l'identification du *para*-crésol, du phénol et du 2,4-xylénol sera très malaisée lorsque ces corps seront les constituants d'un mélange. On notera, par contre, le comportement particulièrement intéressant, au point de vue analytique, de l'*ortho*-crésol qui se sépare d'une manière parfaite de ses isomères et du phénol.

La figure n° 9 contient les résultats correspondant aux chromatographies des phénols précédemment mis en œuvre sur une phase stationnaire constituée de cholestérol (7,5 %). La longueur des tubes de la colonne est de 3 m, la température de 156 °C et le débit de vapeur correspond à la volatilisation de 0,042 ml/mn d'eau.

De l'examen de la figure n° 9 il ressort que les phénols con-

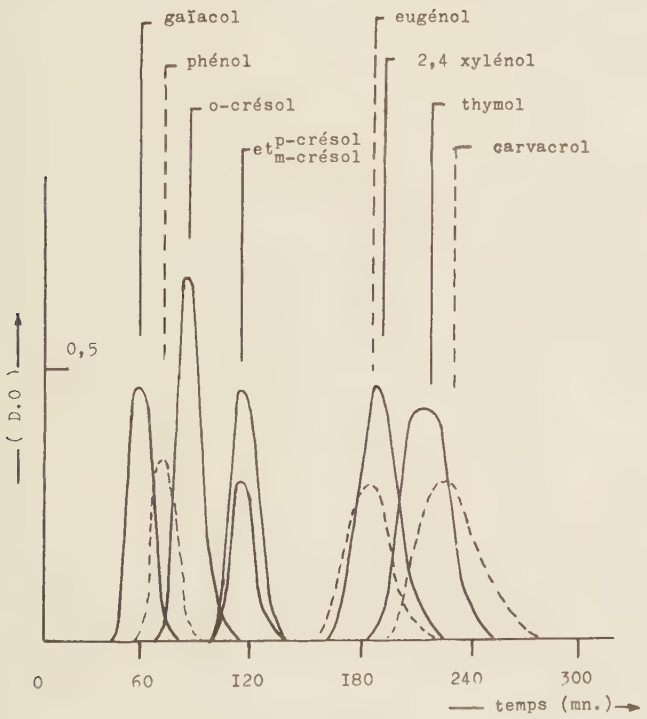


Figure 9 - Etude de l'influence de la nature de la phase liquide : emploi du cholestérol. - Gaïacol (100 µg), *o*.crésol (100 µg), *p*.crésol (100 µg), 2,4-xylénol (200 µg), carvacrol (200 µg), phénol ((40 µg), *m*.crésol (100 µg), eugénol (150 µg) et thymol (400 µg), chromatographiés séparément (D : eau : 0,042 ml/mn ; St : cholestérol (7,5 %) ; L : 3 m ; T : 156 °C ; t : 3 mn). (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).

sidérés sont convenablement chromatographiés lorsque le cholestérol est utilisé. La résolution correcte de mélanges comprenant par exemple soit le gaïacol, l'*ortho*-crésol, le *para*-crésol, le 2,4-xylénol et le carvacrol, soit le phénol, le *méta*-crésol, l'eugénol et le thymol, peut être obtenue. Par contre, l'utilisation de cette phase ne permet pas de caractériser le *para*-crésol en présence de son isomère *méta*, l'eugénol à côté du 2,4-xylénol. Cependant on notera que nous pouvons, à l'aide du cholestérol, séparer l'eugénol de l'*ortho*-crésol, le 2,4-xylénol du phénol et des crésol, opérations qui ne pouvaient être obtenues par l'emploi du glycérol.

On trouvera enfin, dans la figure n° 10, les résultats correspondant aux chromatographies des phénols sur une phase stationnaire constituée de 15 % de graisse de silicone.

L'examen de la figure n° 10 permet de comparer le comportement chromatographique des différents phénols sur cette phase stationnaire. Il ressort que certaines séparations ne sont pas com-

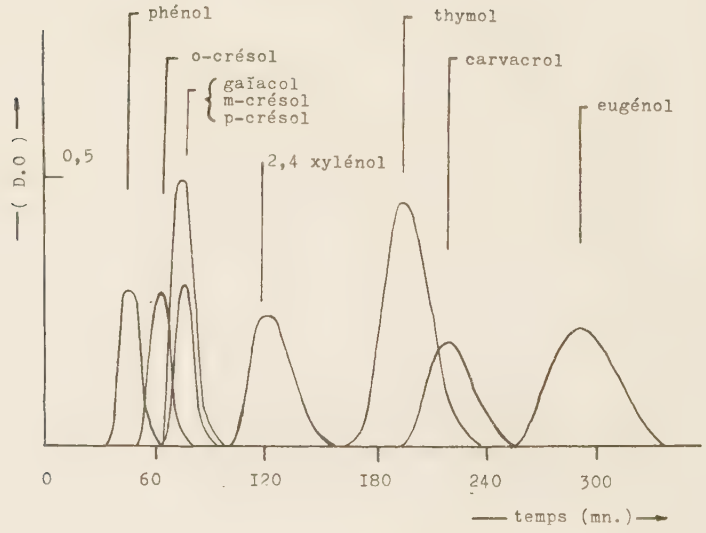


Figure 10 - Etude de l'influence de la nature de la phase liquide : emploi de la graisse de silicone. Phénol (40 µg), *o*. crésol (50 µg), *m*. crésol (100 µg), *p*. crésol (100 µg), 2,4-xylénol (200 µg), thymol (400 µg), carvacrol (300 µg), eugénol (400 µg) et gaïacol (200 µg) chromatographiés séparément (D : eau : 0,10 ml/mn ; St : silicone (15 %) ; L : 6 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn). (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).

plètes mais que les six phénols suivants : phénol, *ortho*-crésol, gaïacol, 2,4-xylénol, thymol, carvacrol, et eugénol peuvent être identifiés lorsqu'ils sont présents dans une même prise d'essais. Seuls trois phénols : le gaïacol, le *méta* et le *para*-crésol possèdent des volumes de rétentions identiques, ce qui les rend indiscernables les uns des autres par chromatographie sur graisse de silicone.

La comparaison des résultats rassemblés dans les figures n° 8, n° 9, et n° 10 montre que quelle que soit la nature des phases liquides étudiées le *méta* et le *para*-crésol ont des comportements suffisamment voisins pour rendre leur identification impossible ; de même on ne peut, d'une manière parfaite, effectuer la séparation du thymol et de son isomère le carvacrol. Par contre, on soulignera qu'à côté de ces cas particuliers, il est possible d'effectuer la séparation de deux phénols parmi ceux dont le comportement chromatographique a été envisagé, en effectuant un choix judicieux de la phase liquide.

B - INFLUENCE DE LA LONGUEUR DU TUBE DE LA COLONNE -

L'influence de la longueur du tube de la colonne sur la qualité des séparations a fait l'objet de nombreux essais. Deux exemples ont été choisis afin d'illustrer l'influence de ce facteur.

Le premier est relatif à la séparation du gaïacol et du phénol sur deux colonnes ayant respectivement 1 m et 3 m de long emplies de la phase stationnaire constituée de glycérol : 40 %. La température du thermostat était fixée à 140 °C et le débit d'eau vaporisé à 0,062 ml/mn. Nous avons rassemblé sous forme de tableau (tableau n° 2) les valeurs des volumes de rétention de ces deux phénols dans les conditions opératoires énoncées.

Tableau n° 2

Variation du rapport des volumes de rétention du gaïacol et du phénol en fonction de la longueur du tube de la colonne.

Longueur du tube	Volumes de rétention		Rapport des volumes de rétention (phénol/gaïacol)
	Gaïacol	Phénol	
1 mètre	2,10	3,90	1,85
3 mètres	2,50	6,0	2,4

L'examen du tableau n° 2 montre que la longueur de la colonne améliore la séparation des substances, ce qui ressort du fait que les volumes de rétention augmentent (quoique non proportionnellement) avec l'allongement des tubes des colonnes.

La deuxième expérience concerne la séparation du phénol et du 2,4-xylénol à l'aide de trois tubes de même diamètre intérieur (0,8 cm) mais dont les longueurs sont respectivement égales à 1 m, 3 m, et 6 m, garnis de la même phase stationnaire (St : graisse de silicone : 15 %). Les autres conditions opératoires (D : eau : 0,10 ml/mn, T : 120 °C) sont identiques pour les trois essais. Les résultats relatifs à ces expériences sont rassemblés dans le graphique de la figure n° 11.

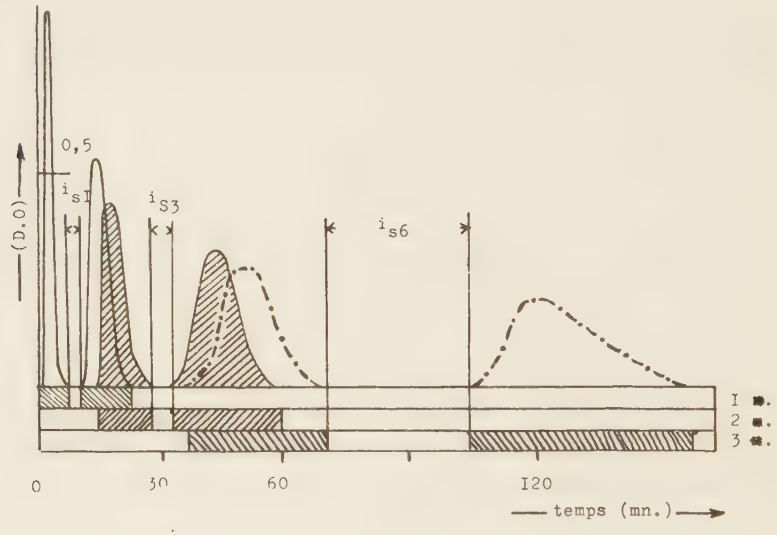


Figure 11 - Influence de la longueur du tube de la colonne. Chromatographies d'un mélange de phénol (40 µg), et de 2,4-xylénol (80 µg). (D : eau : 0,10 ml/mn : St : silicone (15 %) ; L : 1ère expérience : 1 m (trait continu) ; 2ème expérience : 3 m (hachuré) ; 3ème expérience : 6 m (trait discontinu) ; T : 120 °C ; t : 3 mn). (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).

L'examen de la figure n° 11 montre que l'allongement du tube de la colonne conduit à une augmentation du volume de rétention des substances chromatographiées, donc à une durée plus importante des opérations effectuées pour des mêmes débits de vapeur. L'élargissement des *pics* croît avec la durée du transit des solutés dans la colonne. La qualité de la séparation de deux constituants peut être concrétisée par les temps i_s (intervalle de séparation) qui

s'écoule entre l'instant pour lequel un soluté est évacué en totalité du dispositif et celui pour lequel débute l'émergence du soluté suivant. En considérant le graphique n° 11 on notera que le temps i_{s0} = 36 mn, intervalle de séparation du phénol et du 2,4-xylénol, correspondant à l'utilisation d'un tube de colonne de 6 m de long, est supérieur à celui observé lorsque la longueur du tube n'est que de 3 m (i_{s3} = 6 mn). De même, ce dernier intervalle est plus important que celui relatif à l'emploi d'une colonne de longueur égale à 1 mètre (i_{s1} = 3 mn). Ceci traduit donc l'amélioration notable de la qualité des séparations en relation avec l'allongement du tube des colonnes.

C - INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DE TRAVAIL -

Afin d'illustrer l'influence de ce facteur sur le développement des chromatographies nous avons pris comme exemple la séparation de deux isomères : *ortho*-crésol et *para*-crésol. La phase stationnaire (graisse de silicone : 15 %), la longueur du tube (6 m) et le débit de vapeur sont identiques dans les trois essais réalisés. Les températures sont de 110 °C au cours du premier, 115 °C pour le second et 120 °C pour le troisième. Les résultats relatifs à cette expérience sont rassemblés dans la figure n° 12.

L'examen du graphique de la figure n° 12 montre l'importance du facteur température sur les temps ou les volumes de rétention. Les faibles températures conduisent à des volumes de rétention importants, à des *pics* plus larges, mieux différenciés. Le document obtenu pour une température fixée à 110 °C est de ce fait le plus facile à interpréter.

Signalons que l'emploi du glycérol oblige à travailler à une température inférieure à 160 °C car au-dessus de ce point la phase se décompose (17). Par contre lorsque le cholestérol est mis en œuvre les températures de travail doivent être choisies supérieures à 148° 5 C, point de fusion de cette substance.

D - INFLUENCE DU DEBIT DE VAPEUR -

Un exemple permettra d'apprécier l'influence de ce facteur sur le pouvoir de résolution de notre dispositif. Il correspond à deux chromatographies portant sur la séparation du thymol et de l'eugénol. Les conditions opératoires identiques ont été adoptées au cours des deux essais (St : graisse de silicone 15 % ; L : 3 m, T : 120 °C) sauf en ce qui concerne la quantité d'eau vaporisée dans l'unité de temps (D_1 : 0,12 ml/mn et D_2 : 0,062 ml/mn). Les résultats relatifs à ces expériences sont rassemblés sous forme de graphique dans la figure n° 13.

L'examen du graphique n° 13 montre que les volumes de rétention sont identiques dans les deux cas mais que les temps de rétention varient d'une manière inversement proportionnelle à la valeur du

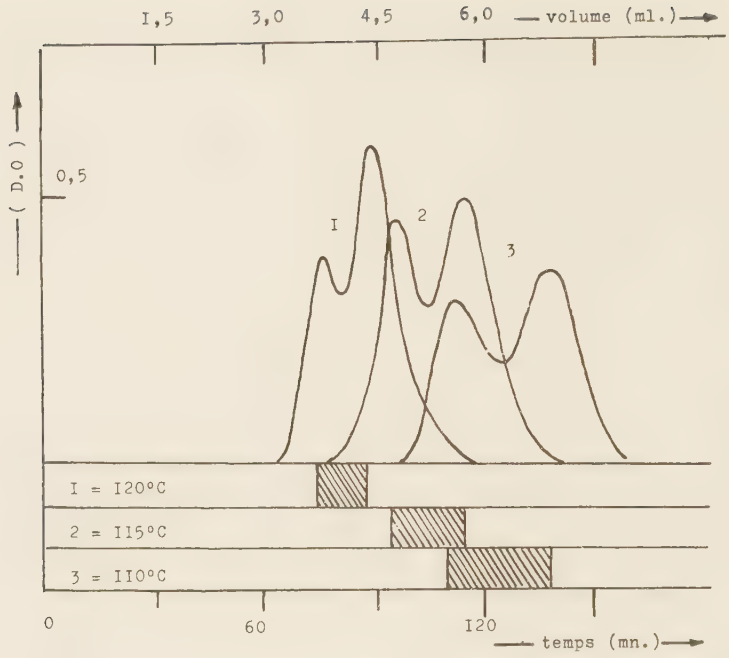


Figure 12 - Influence de la température - Chromatographies d'un mélange d'*o.* crésol (200 µg) et de *p.* crésol (200 µg) (D : eau : 0,05 ml/mn ; st : silicone (15 %) ; L : 6 m ; T : 1ère expérience : 120 °C, 2ème expérience : 115 °C, 3ème expérience : 110 °C ; t : 3 mn). (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).

débit utilisé. Pour une vitesse de courant de vapeur faible, on note que les *pics* sont mieux différenciés. La qualité de la séparation, telle que nous l'avons définie p. 48 est donc en rapport étroit avec le débit du courant de vapeur. L'expérience nous a montré que les débits supérieurs à une certaine valeur (0,2 ml/mn pour l'eau) ne permettent plus d'effectuer des séparations chromatographiques, ce qui semble correspondre à un régime turbulent au sein de la colonne.

E - INFLUENCE DE LA NATURE DE LA VAPEUR : EAU et ETHANOL -

Deux expériences comparatives illustrent l'influence de la nature de la vapeur sur les séparations chromatographiques. La lon-

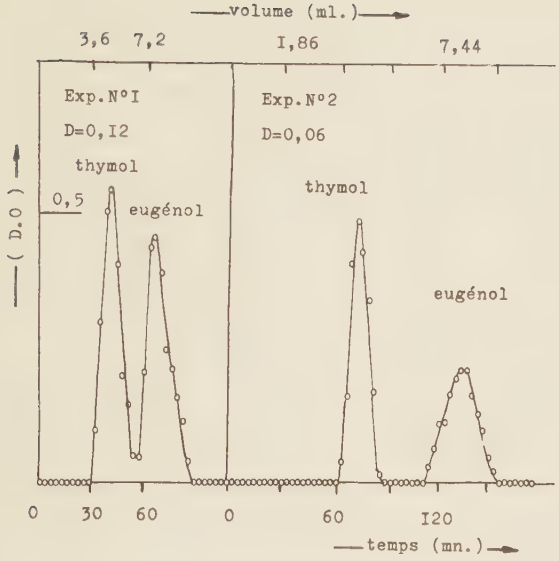
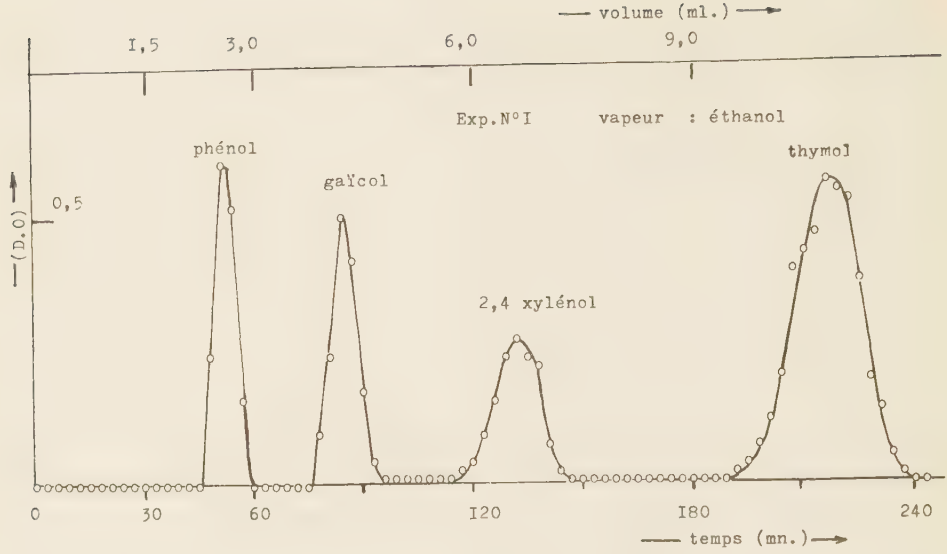


Figure 13 - Influence du débit - Chromatographies d'un mélange de thymol (200 µg) et d'eugénol (154 µg). (D : eau : 1ère expérience : 0,120 ml/mn - 2ème expérience : 0,062 ml/mn, St : glycérol (40 %) ; T : 140 °C ; L : 3 m ; t : 3 mn). (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).

gueur du tube (3 m), la température (T. 120 °C), le débit (0,05 ml) des liquides vaporisés, la phase stationnaire (graisse de silicone : 15 %) ont été identiques au cours des deux essais. Ceux-ci sont relatifs à la séparation d'un mélange de phénol, de gaïacol, de 2,4-xylénol et de thymol. Le schéma I de la figure n° 14 correspond à l'utilisation de la vapeur d'eau, le schéma II de la même figure a été réalisé à partir des résultats obtenus après une chromatographie pour laquelle la vapeur d'éthanol a été mise en œuvre.

La comparaison des graphiques dans la figure 14 montre que les ordres d'émergence des solutés correspondant à l'utilisation des deux vapeurs sont analogues. Les temps et les volumes de rétention sont cependant beaucoup plus importants lorsque la vapeur d'éthanol est utilisée par rapport à ceux observés lorsque la vapeur d'eau est mise en œuvre. Ceci est en accord avec le fait qu'un même volume d'eau conduit à un volume de vapeur beaucoup plus important que celui obtenu à partir d'un même volume d'éthanol liquide.



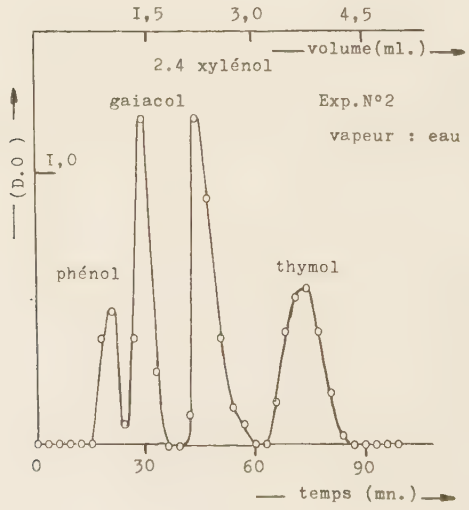


Figure 14 - Chromatographies d'un mélange de phénol (400 µg - 270 mµ), de gaïacol (400 µg - 270 mµ), de 2,4-xylénol (400 µg - 270 mµ) et de thymol (800 µg - 270 mµ).

Expérience n° 1 : D : éthanol : 0,05 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %), L : 3 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn.

Expérience n° 2 : D : eau : 0,05 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %); L : 3 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn.

Nous rappelons, en effet, que à 100 °C 1 ml d'eau conduit à 1696 ml de vapeur alors que le même volume d'éthanol produit seulement 520 ml. Donc remplacer l'eau par l'éthanol revient dans une certaine mesure à diminuer l'intensité du courant de vapeur traversant le dispositif. On constate également que l'emploi de l'eau conduit à des *pics* plus aigus et que cela permet d'effectuer d'une manière commode les chromatographies de corps ayant un volume de rétention élevé. L'éthanol conduit à des chromatographies dont la qualité de résolution est élevée (1).

F - INFLUENCE DE LA QUANTITE DE SUBSTANCES CHROMATOGRAPHIEES -

Nous donnons, à titre d'exemple, les résultats d'une série d'expériences ayant pour but de séparer des quantités variables de phénol et de 2,4-xylénol sur une phase stationnaire constituée de graisse de silicone (15 %), la longueur du tube est de 3 m, la température de 120 °C et le débit de vapeur correspond à la volatilisation de 0,05 ml d'eau dans une minute. Les quantités de phénol et de 2,4-xylénol sont respectivement de 131 µg, 197 µg, 262 µg et 524 µg au cours des quatre expériences. La figure n° 15 présente les chromatogrammes obtenus.

De l'examen de la figure n° 15 il ressort que pour un même soluté le volume de rétention, la largeur et l'allure générale des *pics* sont, en pratique, indépendants de la quantité de composés mis en œuvre, dans des limites que nous nous sommes fixées : c'est-à-dire entre 131 µg et 524 µg de substance chromatographiée.

G - DETERMINATIONS QUANTITATIVES -

Les expériences que nous allons relater ont eu pour objet de rechercher si notre technique est susceptible d'applications en analyse quantitative. Pour cela nous avons réalisé une série de chromatographies à l'aide d'une colonne de 3 m garnie de graisse de silicone (15 %), pour une température de 120 °C et en utilisant un débit de vapeur correspondant à la volatilisation de 0,05 ml d'eau par minute. Afin d'obtenir une précision optima dans la mesure du volume de la prise d'essai introduite dans l'appareil, nous avons utilisé le dispositif mettant en œuvre le robinet à voie jaugée (voir p. 29). Les prises d'essais sont relatives à des solutions de titres connus en phénol et en 2,4-xylénol et nous avons pu introduire par ce moyen des quantités respectivement égales à 131 µg, 196 µg, 262 µg et 524 µg des deux phénols. Les dosages des substances contenues dans chaque fraction de l'effluent ont été effectués par spectrophotométrie en lumière ultra-violette et, pour des lon-

---

(1) Précisons qu'un débit supérieur à 0,5 ml d'éthanol vaporisé dans une minute ne permet plus d'obtenir des chromatographies correctes.

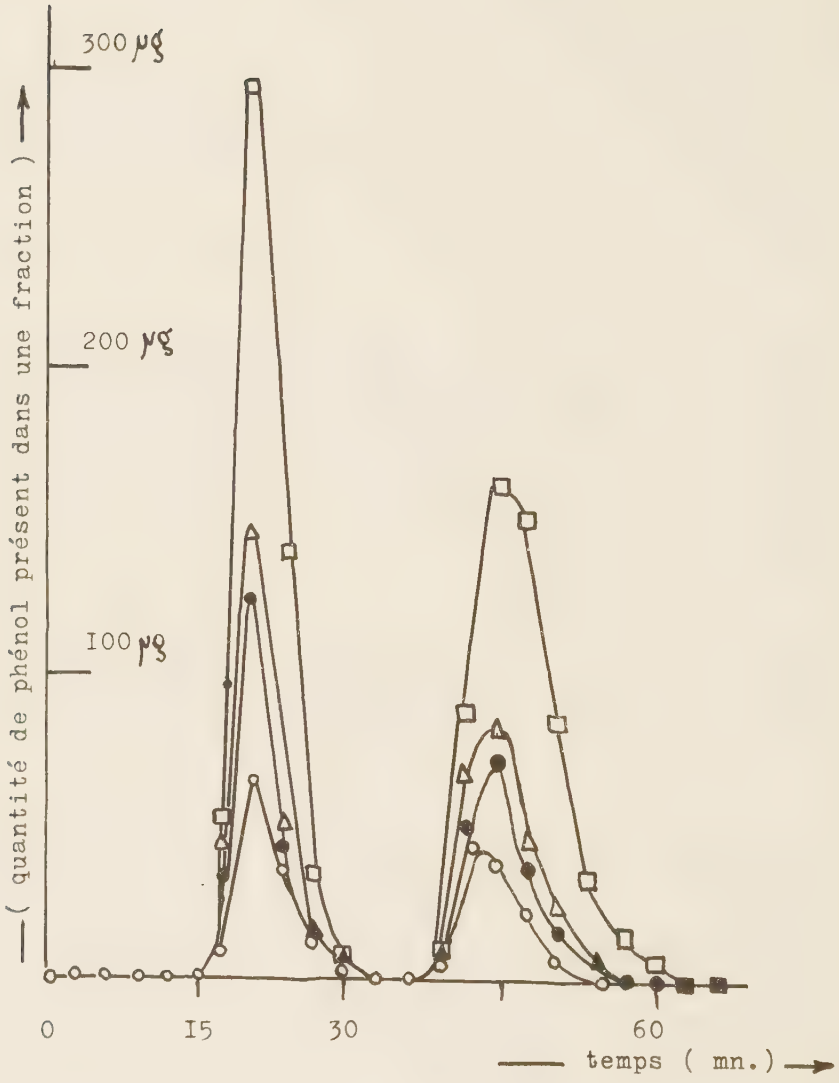


Figure 15 - Influence de la quantité de substances chromatographiées. Chromatographies d'un mélange de phénol et de 2,4-xylénol : (D : eau : 0,10 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 3 m ; T : 120 °C.

1ère expérience : phénol : 131 µg, 2,4-xylénol : 131 µg.
2ème expérience : phénol : 196 µg, 2,4-xylénol : 196 µg.
3ème expérience : phénol : 262 µg, 2,4-xylénol : 262 µg.
4ème expérience : phénol : 524 µg, 2,4-xylénol : 524 µg.

gueurs d'onde de 269 mμ pour le phénol et 276 mμ pour le xylénol. La somme des déterminations effectuées sur les fractions correspondant à l'émergence d'un soluté a été réalisée. Douze chromatographies ont été exécutées. Les résultats s'y rapportant sont rassemblés dans le tableau n° 3.

L'examen de ce tableau montre qu'il est possible à l'aide de notre appareillage de récupérer intégralement les phénols mis en œuvre. Nous avons pu doser de 131 μg à 524 μg de phénol ou de 2,4-xylénol avec une précision de l'ordre de ± 5 p. 100. Les erreurs extrêmes ne sont jamais prohibitives puisqu'elles ont pour valeur - 7,5 p. 100 et ne sont observées qu'exceptionnellement pour des quantités faibles de composé soumis à l'analyse.

Tableau n° 3

Déterminations effectuées dans l'effluent après chromatographies de quantités connues de phénol et de 2,4-xylénol.

Théorie (en μg)	Phénol		2,4-xylénol	
	trouvé (en μg)	erreur %	trouvé (en μg)	erreur %
524	542	+ 3,5	517	- 1,3
524	517	- 1,3	505	- 3,5
524	532	+ 1,5	518	- 1,3
262	255	- 2,5	261	- 0,5
262	250	- 4,4	-	-
262	270	+ 3	-	-
196	194	- 1	193	- 2,3
196	188	- 4	185	- 5
196	190	- 3	193	- 2,3
131	128	- 2,3	127	- 3
131	122	- 6,8	120	- 7,5
131	123	- 6,8	120	- 7,5

CHAPITRE IV

CHROMATOGRAPHIE PAR ENTRAINEMENT PAR LES VAPEURS DE DIFFÉRENTES SUBSTANCES AROMATIQUES

Nous avons rassemblé dans ce chapitre un certain nombre de documents représentant des exemples choisis de chromatographies portant sur la séparation de substances aromatiques simples et typiques des principales familles de la Chimie Organique. Toutes ces expériences ont été réalisées à l'aide de la *graisse de silicone* comme phase liquide. La composition de la phase stationnaire est de 15 g de graisse de silicone pour 100 g de granulé de brique.

La vapeur d'*eau* et la vapeur d'*éthanol* ont été employées. Les expériences présentées dans le chapitre précédent nous ont montré que l'emploi des deux vapeurs conduit à des résultats qualitatifs analogues. Des considérations pratiques nous ont guidé dans le choix de la nature de la vapeur. L'éthanol a été utilisé lorsque les substances chromatographiées sont insolubles dans l'eau. Il est en effet nécessaire que les composés analysés soient solubles dans la phase liquide de la vapeur utilisée. S'il en est autrement, le soluté forme de fines gouttes à la surface de l'effluent condensé et rend celui-ci hétérogène. Le soluté, s'il est solide à la température ambiante, peut même cristalliser dans le microréfrigérant et l'obturer.

Lorsque nous nous sommes trouvé en présence d'un mélange de corps présentant des temps de rétention très différents, afin de ne pas prolonger inutilement la durée des expériences, nous avons au cours de celles-ci augmenté le débit de vapeur. Comme nous le verrons, par la suite, ceci nous a donné des résultats satisfaisants, si les composés restant en cet instant au sein du dispositif ont des volumes de rétention très différents. Dans le cas contraire, nous avons conservé une faible valeur au débit de liquide vaporisé mais nous avons augmenté le temps pendant lequel les fractions sont recueillies. Bien que ces conditions amènent à des chromatographies nécessitant une durée de développement importante

les résolutions sont meilleures. Notons que des expériences ont été effectuées en réalisant une élévation contrôlée de la température du thermostat. Ces essais ne nous ont pas donné satisfaction et nous avons renoncé à modifier la température pendant le déroulement d'une chromatographie.

Les résultats qui vont être exposés représentent des exemples relatifs à la chromatographie de substances de structure chimique simple. Ils ont été classés en fonction de l'appartenance des composés analysés aux familles ou groupes suivants :

1) Carbures aromatiques.

2) Dérivés monosubstitués du benzène.

3) Dérivés chlorés du benzène.

4) Phénols.

5) Ethers méthyliques des phénols.

6) Dérivés chlorés du phénol.

7) Dérivés nitrés du phénol.

8) Amines primaires juxta-nucléaires.

9) N-alcoylanilines.

10) Aldéhydes aromatiques.

11) Alcool benzylique et acétophénone.

1 - CARBURES AROMATIQUES -

La figure n° 16 illustre la séparation de quelques carbures aromatiques simples : benzène, toluène, *ortho*-xylène, sur une colonne de 6 m de long, à une température de 120 °C, et pour un débit de vapeur d'éthanol correspondant à la volatilisation de 0,075 ml de liquide par minute.

L'examen de cette figure montre que dans les conditions opératoires décrites, la chromatographie du benzène, du toluène et de l'*o*-xylène est particulièrement satisfaisante.

2 - DERIVES MONOSUBSTITUES DU BENZENE -

Le document présenté dans la figure n° 17 correspond à la chromatographie de certains dérivés résultant de la substitution d'un hydrogène du benzène par un groupement méthyl (toluène) ou par un halogène (monochlorobenzène - monobromobenzène). Le benzène a été placé dans le mélange des composés ci-dessus énumérés, en tant que substance de référence. La chromatographie a été réalisée sur une colonne de 6 m de long, à une température de 120 °C ; la vapeur est l'éthanol et le débit de vapeur correspond à la volatilisation de 0,05 ml de liquide par minute.

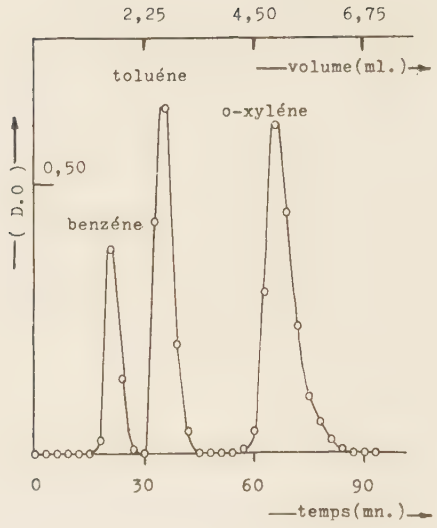


Figure 16 - Chromatographie d'un mélange de benzène (2 900 µg - 255 mµ), de toluène (2 900 µg - 261 mµ), et d'o.xylène (2 900 µg - 266 mµ). (D: éthanol : 0,075 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; T : 120 °C ; L : 6 m ; t : 3 mn).

L'examen de la figure n° 17 montre que dans les conditions opératoires adoptées la séparation totale des constituants d'un mélange de benzène, de toluène, de monochlorobenzène et de monobromobenzène, peut être effectuée.

Dans la figure n° 18 se trouvent rassemblées les résultats relatifs aux chromatographies (effectuées séparément) de certains dérivés monosubstitués du benzène : toluène, aniline, phénol, nitrobenzène. Comme dans le cas précédent le benzène a été pris comme corps de référence. Les conditions opératoires sont analogues à celles adoptées pour la chromatographie que nous venons de décrire, sauf en ce qui concerne le débit de liquide vaporisé qui est ici de D : 0,10 ml/mn.

Il ressort de l'examen de la figure n° 18 que l'aniline et le phénol ne peuvent être séparés en utilisant la graisse de silicone comme phase stationnaire. Par contre cette phase permet d'effectuer la séparation correcte de ces deux substances d'avec le benzène et le toluène d'une part, et d'avec le nitrobenzène de l'autre.

Page 59 : *Le graphique de la figure 17 correspond à la légende de la figure 18. Le graphique de la figure 18 correspond à la légende de la figure 17.*

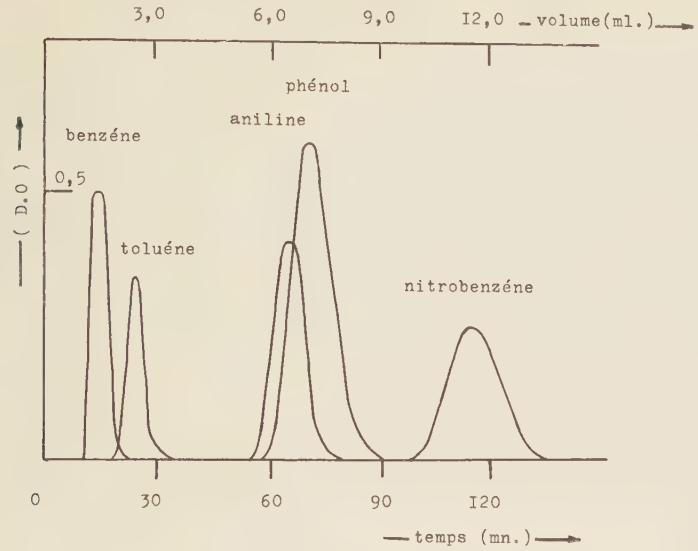


Figure 17 - Chromatographie d'un mélange de benzène (1 200 µg - 255 mµ), de toluène (2 200 µg - 261 mµ), de monobromobenzène (3 750 µg - 263 mµ), de monochlorobenzène (1 700 µg - 264 mµ) (D : éthanol : 0,05 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 6 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn).

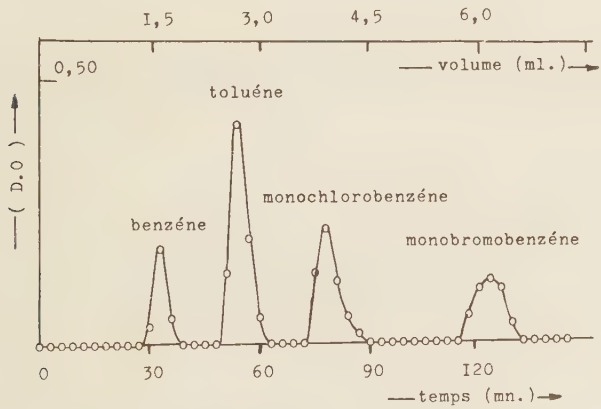


Figure 18 - Benzène (2 900 µg - 255 mµ), toluène (2 900 µg - 261 mµ), aniline (800 µg - 282 mµ), phénol (800 µg - 275 mµ) et mononitrobenzène (48 µg - 260 mµ) chromatographiés séparément. (D : éthanol : 0,10 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 6 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn).

3 - DERIVES CHLORES DU BENZENE -

La figure n° 19 permet de rendre compte des possibilités de séparation du monochlorobenzène, de l'*ortho*- et du *para*-dichlorobenzène. Deux chromatographies ont été effectuées. La première est relative à un mélange de monochlorobenzène et d'*o*-dichlorobenzène, la seconde au *para*-dichlorobenzène seul. Les conditions opératoires mises en œuvre au cours de ces deux expériences sont les suivantes : la longueur de la colonne est de 6 m, la température de 120 °C, la vapeur est celle d'éthanol et son débit correspond à la volatilisation de 0,075 ml/mn de ce composé.

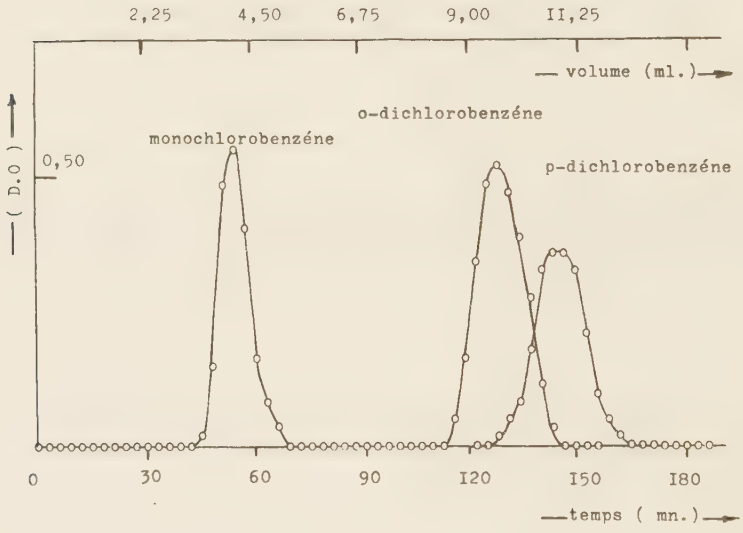


Figure 19 Chromatographie d'un mélange de monochlorobenzène (5 500 µg - 261 mµ) et d'*o*-dichlorobenzène (6 500 µg - 270 mµ) et chromatographie du *p*-dichlorobenzène (6 500 µg - 270 mµ). (D : éthanol : 0,075 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %), L : 6 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn).

Si l'on se rapporte au graphique de la figure n° 19 on voit que le monochlorobenzène peut être séparé en totalité des dérivés dichlorés du benzène, sous forme d'un pic dont il est l'unique constituant. On notera, par contre, que l'*ortho*- et le *para*-dichlorobenzène ne peuvent être totalement séparés dans nos conditions opératoires, néanmoins la différence existant entre leur volume de rétention est

telle qu'elle permet de les identifier lorsqu'ils sont présents dans une même prise d'essai.

4 - PHENOLS -

Nous avons réalisé la chromatographie d'un mélange des sept phénols suivants : phénol, *ortho-*, *méta* et *para*-crésol, 2,4-xylénol, thymol (I), carvacrol (II) et eugénol (III), à l'aide d'une colonne de 6 m. Cette expérience a été réalisée à la température de 110 °C dans le but d'effectuer une identification correcte des termes les plus volatils (phénols et crésol). La vapeur est la vapeur d'eau. Dans ces conditions les autres composés présents dans le mélange ont des temps de rétention tels que nous avons été amené à augmenter le débit d'eau vaporisé en cours d'expérience, après 150 mn de fonctionnement, c'est-à-dire après l'émergence du phénol et des crésols. La valeur du débit de liquide vaporisé a été portée de 0,05 ml/mn à 0,10 ml/mn.

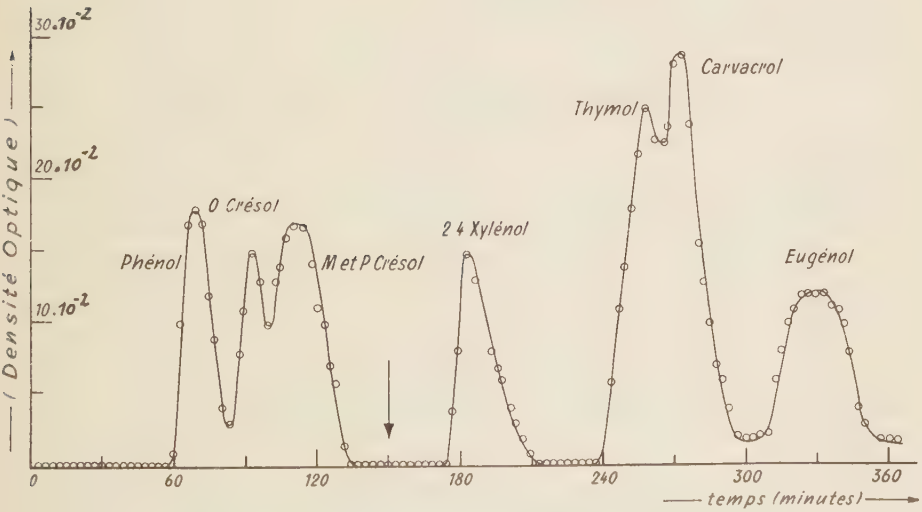
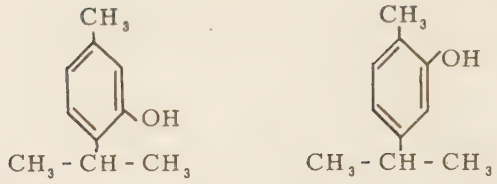


Figure 20 - Chromatographie d'un mélange de phénol (40 µg), d'*o*-crésol (50 µg), de *m*-crésol (50 µg), de *p*-crésol (50 µg), de 2,4-xylénol (100 µg), de thymol (40 µg), de carvacrol (300 µg) et d'eugénol (400 µg), (D : eau : 0,05 ml/mn du temps zéro à la 150ème mn, puis 0,10 ml/mn de la 151ème mn jusqu'à la fin - St : silicone (15 %) ; L : 6 m ; T 110 °C ; t : 3 mn) - (Dosages effectués par la méthode de Folin et Ciocalteu).



I) thymol II) carvacrol

L'examen de la figure n° 20 montre que le phénol émerge le premier de la colonne et est facilement identifiable. Les crésols ne sont pas totalement séparés : on peut mettre en évidence la présence de l'isomère *ortho*, par contre le *méta* et le *para*-crésol ne peuvent être séparés. Le 2,4-xylénol émerge sous forme d'un pic dont il est l'unique constituant. Le thymol et le carvacrol peuvent être identifiés. Enfin l'eugénol correspond à une "vague" comprenant ce seul composé.

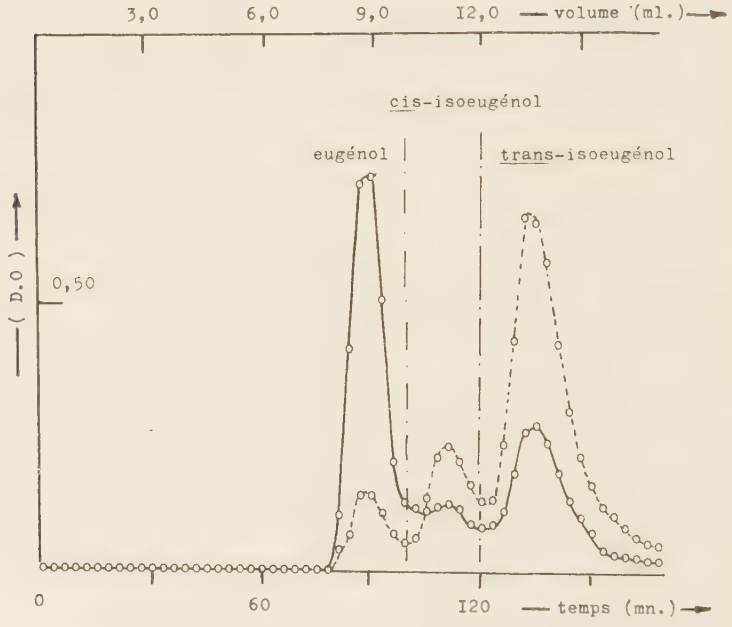
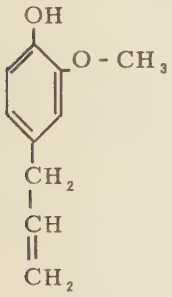
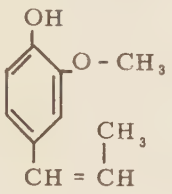


Figure 21 - Chromatographie d'un mélange d'eugénol (975 µg), de *cis*-isoeugénol (80 µg) et de *trans*-isoeugénol (320 µg). (D : eau : 0,10 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) : L : 6 m ; T : 140 °C ; t : 3 mn). Déterminations effectuées par spectrophotométrie ultra-violette à deux longueurs d'onde ; trait continu : 282 mµ et trait discontinu : 254 mµ.

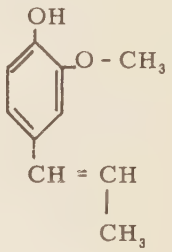
La figure n° 21 illustre la chromatographie d'un mélange d'eugénol (III), de *cis*-isoeugénol (IV) et de *trans*-isoeugénol (V). Les conditions opératoires ont été ainsi fixées : la longueur de la colonne est de 6 m, le débit de vapeur correspond à la volatilisation de 0,10 ml d'eau par minute, la température est de 140 °C.



III) eugénol



IV) *cis*-isoeugénol



V) *trans*-isoeugénol

L'examen de la figure n° 21 montre que, bien que la séparation de ces trois corps ne soit pas totale, elle est néanmoins satisfaisante et peut conduire à une identification aisée. Les déterminations analytiques peuvent être complétées graphiquement à partir de ce document. Il suffit en effet d'effectuer les déterminations de l'absorption des liqueurs provenant du fractionnement de l'effluent pour deux longueurs d'onde convenablement choisies (1).

Cette opération peut être réalisée lorsque l'on se trouve en présence d'un mélange d'eugénol et de *cis*-isoeugénol dont les spectres d'absorption sont très différents, par contre cette opération ne peut l'être lorsque le *cis*-isoeugénol est présent à côté de son isomère *trans* : ces deux composés ont des spectres d'absorption analogues (45).

5 - ETHERS METHYLIQUES DES PHENOLS -

L'expérience, dont les résultats sont rassemblées dans la figure n° 22, est relative à la chromatographie d'un mélange d'ani-

---

(1) On effectue sur une solution contenant des quantités inconnues x et y de deux composés, respectivement A et B, deux déterminations de son absorption pour deux longueurs d'onde différentes. Soient M et m les valeurs ainsi établies sous une épaisseur donnée. On détermine par ailleurs, dans les mêmes conditions, les valeurs de l'absorption de deux solutions, l'une contenant la masse C de corps A et l'autre la même masse C de corps B, pour les deux longueurs d'onde choisies. Soient T et t et I et i respectivement les absorptions de ces solutions.
Les quantités x de A et y de B présents dans le mélange initialement étudié peuvent être calculées à partir des équations :

$$(1)\quad M = \frac{I}{C}\,x + \frac{T}{C}\,y \qquad \text{et} \qquad (2)\quad m = \frac{i}{C}\,x + \frac{t}{C}\,y$$

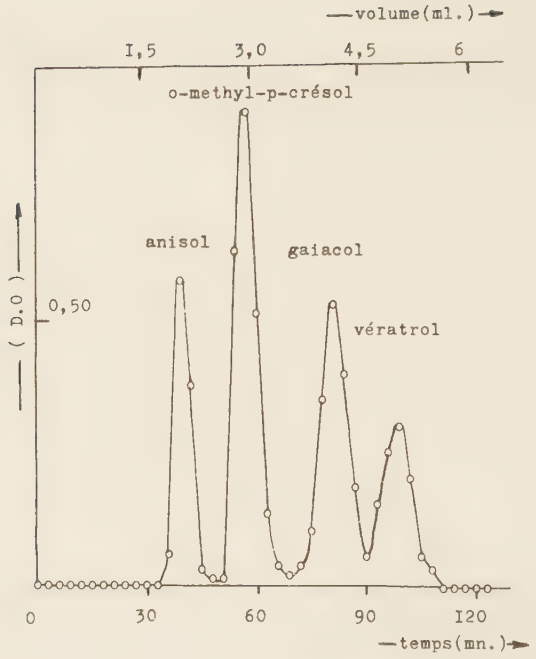
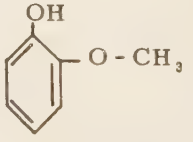
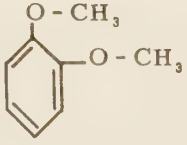


Figure 22 - Chromatographie d'un mélange d'anisol (400 µg - 272 mµ) d'éther oxyde méthylique du *p*-crésol (400 µg - 278 mµ), du gaïacol (400 µg - 274 mµ) et du vératrol (400 µg - 274 mµ). (D : éthanol 0,05 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 3 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn).

sol, d'éther méthylique du *para*-crésol, du gaïacol (VI) et du vératrol (VII). Elle a été réalisée sur une colonne de 3 m, à la température de 120 °C, la vapeur était la vapeur d'éthanol et son débit correspondait à la volatilisation de 0,05 ml de liquide dans une minute.



VI) gaïacol



VII) vératrol

De l'examen de la figure n° 22 il ressort que la séparation chromatographique de ces dérivés est satisfaisante.

La figure n° 23 illustre les résultats de chromatographies effectuées séparément de divers éthers méthyliques des phénols, à

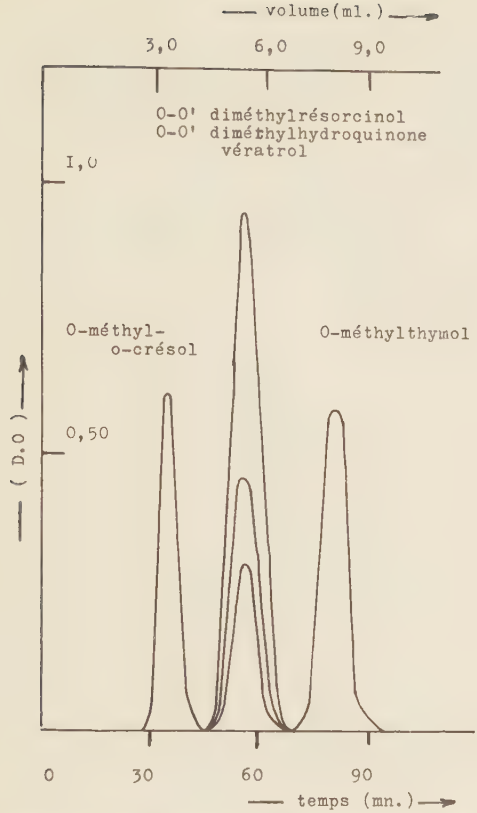


Figure 23 - Chromatographies effectuées séparément de l'éther méthylique de l'*o*-crésol (400 µg - 270 mµ), du vératrol (400 µg - 274 mµ), du diéther méthylique du résorcinol (800 µg - 275 mµ), du diether méthylique de l'hydroquinone (800 µg - 291 mµ) et de l'éther méthylique du thymol (400 µg - 273 mµ). (D : éthanol : 0,10 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 3 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn).

savoir : l'éther méthylique de l'*ortho*-crésol, les éther-oxydes méthyliques du résorcinol et de l'hydroquinone, le vératrol et l'éther méthylique du thymol. Les conditions opératoires étant identiques à celles de la précédente expérience, sauf en ce qui concerne le débit de vapeur qui correspond à la volatilisation de 0,10 ml d'éthanol par minute.

Si l'on se rapporte à la figure n° 23 l'on voit que les diéthers méthyliques des diphénols présentent le même volume de rétention et ne peuvent être identifiés les uns par rapport aux autres. Par contre, ces dérivés sont parfaitement séparés des éthers méthyliques de l'*o*-crésol et du thymol. Ces deux derniers composés ayant des volumes de rétention respectivement égaux à 3,3 ml et à 7,5 ml d'éthanol, dans nos conditions opératoires.

6 - DERIVES MONOCHLORES DU PHENOL -

La figure n° 24 illustre la chromatographie d'un mélange d'*ortho*-chlorophénol et de *para*-chlorophénol. Cette expérience a été réalisée à l'aide d'une colonne de 6 m, pour une température de 140 °C, la vapeur est celle de l'eau et correspond à la volatilisation de 0,10 ml de liquide par minute.

De l'examen de la figure n° 24 il ressort que la séparation des deux isomères *ortho* et *para* du monochlorophénol peut être parfaitement effectuée dans les conditions opératoires que nous avons fixées.

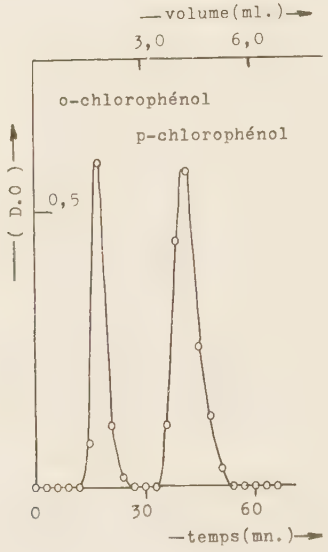


Figure 24 - Chromatographie d'un mélange d'*o*-chlorophénol (400 µg - 271 mµ) et de *p*-chlorophénol (400 µg - 279 mµ). (D : eau : 0,10 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 6 m ; T : 140 °C ; t : 3 mn).

7 - DERIVES MONONITRES DU PHENOL -

La recherche des conditions opératoires permettant l'étude du comportement chromatographique des trois isomères du mononitrophénol nous a conduit tout d'abord à considérer le comportement de l'isomère *ortho*, particulièrement entraînable par la vapeur d'eau. Aussi l'avons-nous soumis à l'analyse chromatographique et comparé son temps de rétention avec ceux du phénol et du mononitrobenzène, pris comme substances de référence. Les conditions opératoires sont les suivantes : longueur de la colonne 6 m, température 120 °C et débit du courant de vapeur correspondant à la volatilisation de 0,05 ml/mn d'eau. Les résultats sont rassemblés dans la figure n° 25.

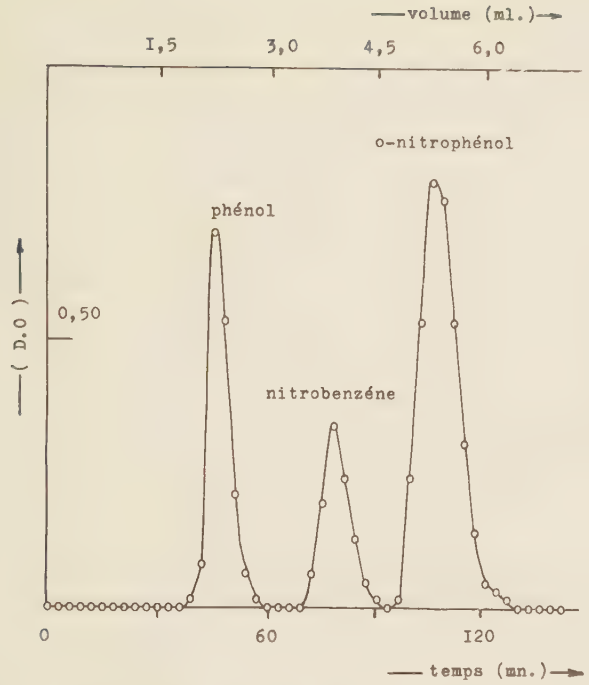


Figure 25 - Chromatographie d'un mélange de phénol (40 µg - 259 mµ) du mononitrobenzène (50 µg - 260 mµ) et de l'*o*-nitrophénol (495 µg - 276 mµ). (D : eau : 0,05 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %), T : 120 °C ; t : 3 mn).

L'examen de la figure n° 25 montre que pour les conditions opératoires adoptées, on obtient une séparation parfaite du phénol, du mononitrobenzène et de l'*o*-nitrophénol. L'ordre d'émergence de ces trois composés respecte l'ordre des points d'ébullition qui sont respectivement de 182 °C pour le phénol, de 210 °C pour le nitrobenzène et de 214°5 pour l'*o*-nitrophénol.

L'utilisation d'eau en tant que vapeur d'entraînement ne nous a pas conduit à des chromatographies du *méta* et du *para*-nitrophénol correctes. Aussi, dans le but de réaliser la résolution d'un mélange comprenant les trois isomères avons-nous adopté les vapeurs d'éthanol. Nous avons utilisé une colonne plus courte (3 m) et une température relativement élevée (140 °C) et conservé tout au long de l'expérience un même débit de vapeur (0, 10 ml/mn d'éthanol). Après que 4, 5 ml d'éthanol aient été vaporisés, nous avons augmenté le temps pendant lequel les fractions sont recueillies qui est ainsi passé de t : 3 mn à t : 10 mn.

Les résultats de cette expérience sont consignés dans la figure n° 26.

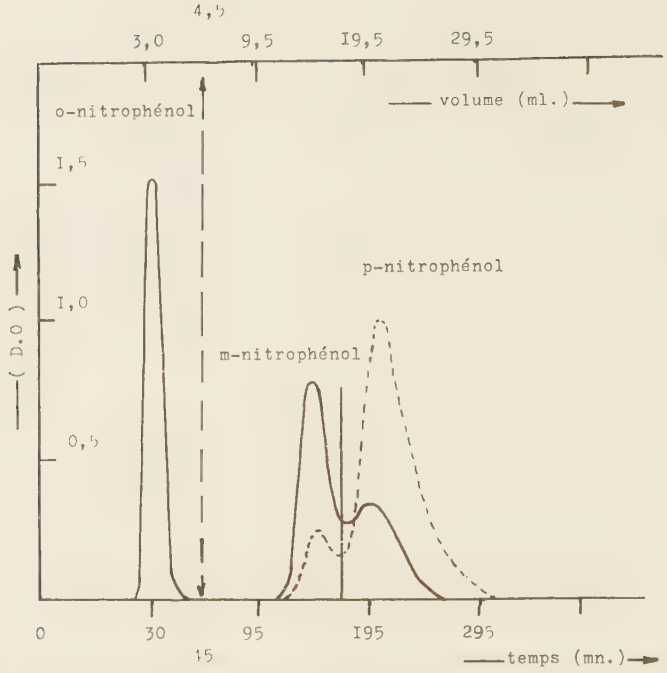


Figure 26 - Chromatographie d'un mélange d'*o*-mononitrophénol (100 µg) de *m*-mononitrophénol (200 µg) et de *p*-mononitrophénol. D : éthanol : 0,10 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 3 m. T : 140 °C ; t : 3 mn jusqu'à la 45ème mn) et 10 mn (de la 46ème mn à la fin). Déterminations effectuées par spectrophotométrie ultra-violette à 2 longueurs d'onde : trait continu : 270 mµ, et trait discontinu : 320 mµ).

De l'examen de la figure n° 26 il ressort que dans les conditions opératoires utilisées l'*ortho*-nitrophénol est parfaitement séparé de ses isomères. Par contre le *méta* et le *para*-nitrophénol ne peuvent être séparés en totalité l'un de l'autre, mais leur identification ne présente aucune ambiguïté en raison de la différence existant entre leurs spectres d'absorption en lumière ultra-violette. Les déterminations effectuées pour des longueurs d'onde différentes permettent de confirmer l'analyse chromatographique.

8 - LES AMINES PRIMAIRES -

Nous avons disposé des constituants suivants : aniline, *ortho*-toluidine, *para*-toluidine et d'un mélange de xylidines (xylidine technique : 215 °C - 226 °C). La chromatographie d'une prise d'essai comprenant ces différents corps a été réalisée sur une colonne de 6 m, à une température de 115 °C et pour un débit de vapeur correspondant à la volatilisation de 0,10 ml d'eau par minute. Les résultats de cette expérience sont rassemblés dans la figure n° 27.

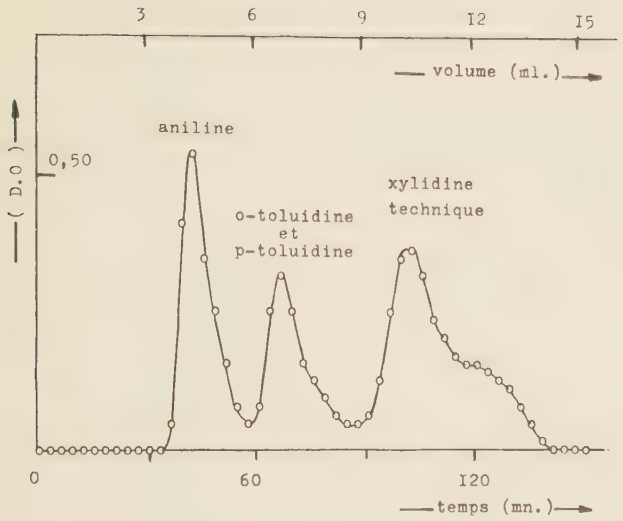


Figure 27 - Chromatographie d'un mélange d'aniline (800 µ g - 282 mµ) d'*o*-toluidine (400 µg - 280 mµ), de *p*-toluidine (400 µg - 280 mµ) et de xylidine technique (800 µg - 280 mµ). (D : eau : 0,01 ml/mn), St : graisse de silicone (15 %) ; L : 6 m ; T : 115 °C ; t : 3 mn).

Il ressort de l'examen de la figure n° 27 que dans les conditions opératoires adoptées, l'aniline est complètement séparée du pic constitué par les toluidines, lesquelles se séparent d'une vague, présentant un contrefort net qui montre bien la complexité du mélange de xylidines qu'elle contient. Les amines primaires aromatiques ne peuvent donc être caractérisées en tant que substance définie, sauf l'aniline, mais en fonction de leur appartenance à un groupe : toluidine ou xylidine.

9 - N. ALCOYLANILINES -

Nous avons effectué la chromatographie d'un mélange constitué de N-monométhylaniline et de NN-diméthylaniline, l'aniline est prise comme substance de référence. Les conditions opératoires sont les suivantes : la longueur de la colonne est de 6 m, la température de 115 °C et le débit de vapeur correspond à la volatilisation de 0,05 ml d'eau par minute. Les résultats de cette expérience sont rassemblés dans la figure n° 28.

L'examen de la figure n° 28 montre que l'aniline est parfaitement séparée de l'amine secondaire et de l'amine tertiaire. Ces derniers composés ne sont pas en totalité séparés l'un de l'autre, néanmoins l'analyse graphique permet de les identifier. Les diffé-

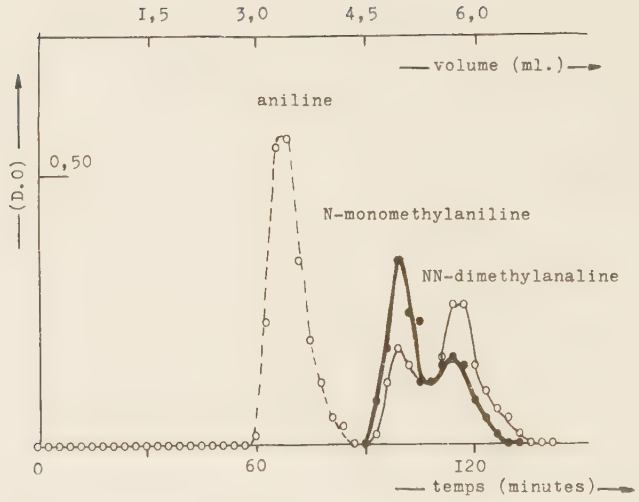


Figure 28 - Chromatographie d'un mélange d'aniline (800 µg), de N-monométhylaniline (800 µg) et de NN-diméthylaniline (800 µg) (D : eau : 0,05 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 6 m ; T : 115 °C ; t : 3 mn).
Déterminations effectuées en spectrophotométrie ultra-violette :

à 281 mµ : trait pointillé (aniline)
à 282 mµ : trait continu (N-alcoylanilines)
à 236 mµ : trait discontinu (N-alcoylanilines).

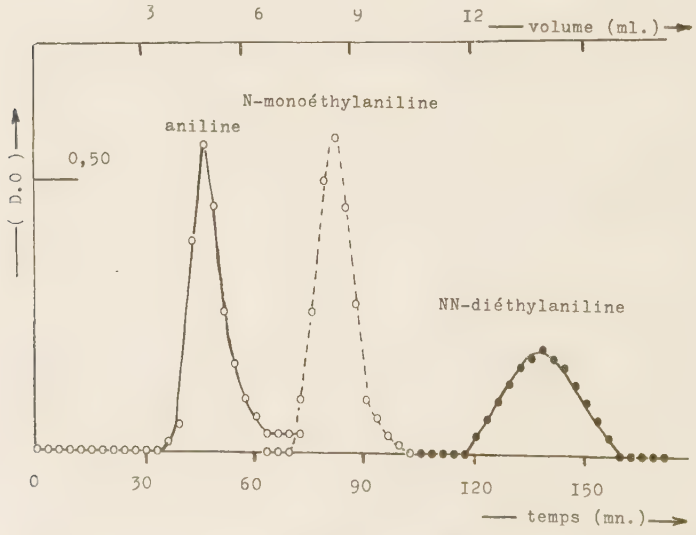


Figure 29 - Chromatographie d'un mélange d'aniline (800 µg - 281 mµ) de la N-monoéthylaninine (800 µg - 237 mµ), de la NN-diéthylaniline (800 µg - 260 mµ). (D : eau : 0,10 ml/mn ; St : graisse de silicone (15 %) ; L : 6 m ; T : 115 °C ; t : 3 mn).

rences existant dans leurs spectres d'absorption facilitent leur caractérisation.

La figure n° 29 illustre la chromatographie d'un mélange constitué de la N-monoéthylaniline, de la NN-diéthylaniline et d'aniline sur une colonne de 6 m, pour une température de 115 °C et pour un débit de vapeur correspondant à la volatilisation de 0,10 ml d'eau dans une minute.

L'examen de la figure n° 29 montre que dans les conditions précisées ci-dessus, la séparation totale de l'aniline, de la N-éthylaniline de la NN-diéthylaniline est obtenue.

10 - ALDEHYDES AROMATIQUES -

Nous avons entrepris l'étude du comportement chromatographique de différents aldéhydes aromatiques les plus courants de cette famille : benzaldéhyde (VIII), salicylaldéhyde (IX), anisaldéhyde (X) et vanilline (XI). L'expérience a été réalisée sur une colonne de 6 m de long, pour une température de 120 °C et pour un débit de vapeur correspondant à la volatilisation de 0,10 ml d'éthanol par minute. Les résultats de cette opération sont rassemblés dans la figure n° 30.

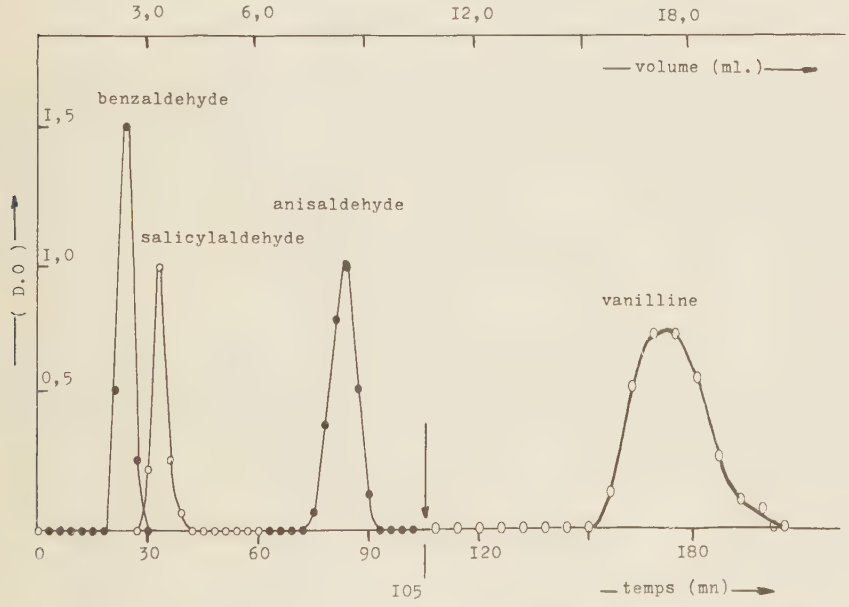
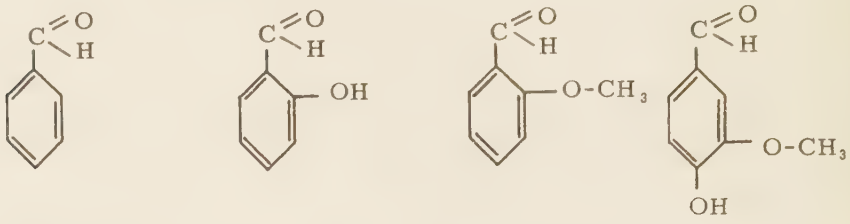


Figure 30 - Chromatographie d'un mélange de benzaldéhyde (100 µg - 244 mµ), de salicylaldéhyde (50 µg - 325 mµ), d'anisaldéhyde (50 µg - 275 mµ), et de vanilline (100 µg - 310 mµ). (D : éthanol : 0,10 ml/mn ; St : silicone (15 %) ; L : 3 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn (jusqu'à la 105ème minute) - 6 mn (de la 106ème mn à la fin).

La vanilline ayant un temps de rétention élevé, afin de récupérer cette substance dans un nombre de fractions raisonnable, nous avons après 105 mn porté la durée pendant laquelle les fractions sont recueillies, de 3 mn à 6 mn.



VIII) benzaldehyde IX) salicylaldéhyde X) anisaldéhyde XI) vanilline

De l'examen de la figure n° 30 il ressort que dans les conditions opératoires adoptées nous pouvons effectuer la séparation totale des constituants d'un mélange composé des quatre aldéhydes aromatiques les plus courants.

11 - ALCOOL BENZYLIQUE ET ACETOPHENONE -

Nous avons étudié le comportement chromatographique de l'alcool benzylique et de l'acétophénone. La figure n° 31 contient les résultats correspondant à deux expériences : la première est relative à la chromatographie de l'alcool benzylique, la seconde à celle de l'acétophénone. Les conditions opératoires sont les suivantes : le tube de la colonne a une longueur de 3 m, la température est de 120 °C, la vapeur est celle de l'éthanol et son débit correspond à la volatilisation de 0, 10 ml par minute.

De l'examen des graphiques contenus dans la figure n° 31 il ressort que ces composés sont susceptibles d'être chromatographiés d'une manière correcte. On notera que leur volume de rétention est identique et de ce fait ces composés ne peuvent, dans les conditions opératoires adoptées, être séparés l'un de l'autre.

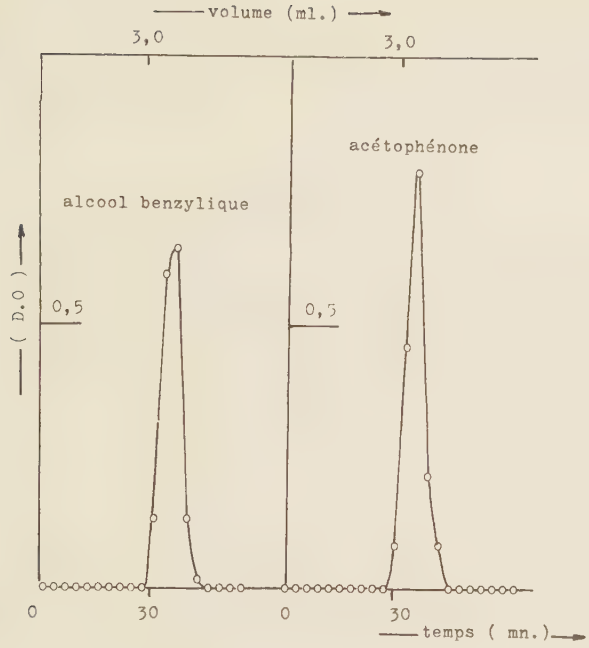


Figure 31 - Chromatographies de l'alcool benzylique (3 150 µg - 268 mµ) et de l'acétophénone (500 µg - 278 mµ). (D : éthanol : 0, 10 ml/mn ; St : silicone (15 %) ; L : 3 m ; T : 120 °C ; t : 3 mn).

CHAPITRE V

DISCUSSION DES RÉSULTATS ET ESSAIS D'INTERPRÉTATION

Nous comptons parmi les résultats les plus importants de notre travail l'appareillage que nous avons mis au point et dont la description, le fonctionnement et les avantages ont été présentés précédemment. Nous ne discuterons ici que des résultats expérimentaux qu'il nous a permis d'obtenir (chapitres 3 et 4). Quatre points retiendront notre attention : le premier concerne l'influence des facteurs intervenant dans les séparations chromatographiques, le second est relatif aux interréactions entre les solutés et les phases stationnaires. Nous tenterons d'interpréter, dans une troisième partie, l'allure de nos *ptcs* en fonction de la théorie de Jaulmes et Mestres. Enfin, en dernier lieu, nous comparerons nos résultats avec ceux relevés dans la littérature, et qui ont été obtenus à l'aide de méthodes chromatographiques classiques.

1 - FACTEURS MODIFIANT L'EFFICACITE DES COLONNES -

Nous avons pu mettre en évidence au cours de nos recherches l'influence de divers facteurs sur l'efficacité et le pouvoir de résolution des colonnes. Nous les envisagerons tour à tour :

a) Quantité de phase liquide.

On n'a pas d'intérêt à utiliser des phases stationnaires trop riches en phase liquide car l'efficacité et le facteur de résolution varient en sens inverse sous l'influence de ce facteur. Le cas du glycérol, pour lequel nous avons retenu une proportion importante de phase liquide par rapport au support inerte, nous semble assez exceptionnel. Néanmoins, devant une phase liquide inconnue, on aura toujours intérêt à effectuer des essais préliminaires, permettant de préciser les conditions les plus favorables. Il est à retenir qu'il existe une proportion optimum de liquide entrant dans la compo-

sition de la phase stationnaire ; une valeur plus grande du rapport entre le liquide et le support inerte conduit à une impossibilité de réaliser des chromatographies. Nous sommes amené à penser que ce phénomène est en relation avec le pouvoir absorbant du support inerte que nous avons mis en œuvre vis-à-vis de chaque phase liquide utilisée.

b) Longueur du tube.

Il ne paraît pas nécessaire d'utiliser des tubes très longs. On constate que l'amélioration des séparations n'est pas proportionnelle à l'allongement des tubes. Il faut noter que des phénomènes secondaires viennent diminuer le rendement des colonnes longues. Celles-ci offrent au passage des vapeurs, une résistance trop importante. La surpression constatée en tête de colonne est nuisible au bon fonctionnement de la micro-chaudière. La chute de pression, qui s'établit au long du tube, conduit à l'abaissement de la qualité des séparations à laquelle on est en droit de s'attendre du fait de l'allongement du tube. A l'heure actuelle, il nous paraît inutile de travailler avec des colonnes de longueur supérieure à 6 mètres.

c) Facteur température.

Notre travail nous amène à penser qu'il est nécessaire de travailler à la température la plus basse possible. Elle doit varier entre 110 °C et 160 °C.

Cette conclusion est en accord avec les données de James (19) relatives à la chromatographie en phase gazeuse.

d) Courant de vapeur.

On notera que nous avons été limité dans l'emploi de débit de vapeur très faible par notre dispositif en raison des variations importantes des volumes des fractions recueillies dans ces conditions. Nos recherches nous conduisent à admettre que le débit de liquide vaporisé doit être compris entre deux valeurs limites : soit 0,05 ml/mn et 0,10 ml/mn pour l'eau, soit 0,05 et 0,20 ml/mn pour l'éthanol. Afin d'avoir des documents facilement interprétables il est souhaitable de récupérer la totalité d'un soluté dans environ 10 fractions. Pour les conditions de nos expériences, nous avons été amené à adopter des temps, pendant lesquels les fractions sont recueillies, supérieurs ou égaux à 3 minutes. Pour les substances ayant un temps de rétention élevé on aura intérêt à utiliser soit des durées de fractionnement de l'ordre de six et même dix minutes, soit des débits de liquide importants. Malgré le prolongement de la durée de la chromatographie dû à l'utilisation d'un débit faible et d'une durée de fractionnement relativement grande, cette solution nous paraît préférable.

2 - INTER-REACTIONS SOLUTES-PHASES STATIONNAIRES -

Notre étude a été plus particulièrement poursuivie dans ce sens au cours des essais effectués dans le but de séparer les phénols sur trois phases stationnaires de polarités différentes : le glycérol, le cholestérol et la graisse de silicone, la vapeur entraînante étant l'eau. L'examen des résultats montre que les ordres d'émergence des solutés sont différents dans chaque cas. Afin de pouvoir les comparer d'une manière plus directe, nous avons rassemblé dans le tableau n° 3 les différentes classifications que l'on peut établir (en fonction des volumes de rétention croissants) pour chaque phase liquide considérée. Nous avons également inclus dans ce tableau une classification des solutés, établie en fonction de leur température d'ébullition.

Tableau n° 3

Comparaison de la classification des phénols établie (a) en fonction de leur température d'ébullition, et de celles correspondant (b) à leur ordre d'émergence sur les différentes phases stationnaires : glycérol (40 %), cholestérol (7,5 %), et graisse de silicone (15 %).

a) Point d'ébullition (760 mm)	b) Phases stationnaires		
	Graisse de silicone	Glycérol	Cholestérol
Phénol (182 °C)	Phénol	Thymol	Gaïacol
o-crésol (191 °C)	*o*-crésol	Carvacrol	Phénol
m-crésol (202°5 C)	*m*-crésol	Gaïacol	*o*-crésol
p-crésol (202°8 C)	*p*-crésol	*o*-crésol	*m*-crésol
Gaïacol (205 °C)	Gaïacol	Eugénol	*p*-crésol
2,4-xylénol (211°5 C)	2,4-xylénol	*m*-crésol	Eugénol
Thymol (233°5 C)	Thymol	*p*-crésol	2,4-xylénol
Carvacrol (237°9 C)	Carvacrol	Phénol	Thymol
Eugénol (252°3 C)	Eugénol	2,4-xylénol	Carvacrol

L'examen du tableau n° 3 montre que l'ordre d'émergence est en relation directe avec les températures d'ébullition lorsque la phase liquide est la graisse de silicone. Il en est de même dans le cas du cholestérol, sauf en ce qui concerne le gaïacol et l'eugénol, par contre l'ordre est tout à fait différent lorsque le glycérol constitue la phase liquide.

1) On constate, tout d'abord, que la phase liquide étant constituée par la *graisse de silicone*, l'ordre de sortie est en relation directe avec les valeurs des températures d'ébullition. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Kreyenbuhl et Weiss (30) en chromatographie en phase gazeuse. Ces auteurs utilisent la même phase liquide que nous, mais en proportion plus grande (30 %) dans la phase stationnaire. Ils utilisent un tube plus long (11 m) et une température plus élevée (165 °C - 190 °C). Ils observent qu'il n'y a pas une proportionnalité rigoureuse entre la température d'ébullition et la valeur du logarithme des volumes de rétention des composés. Cette règle de proportionnalité mise en évidence dans le cas des hydrocarbures aliphatiques n'est, en série aromatique, que grossièrement respectée (30, 8). Il y a une augmentation régulière des volumes de rétention lorsque l'on passe du phénol aux crésols et aux xylénols, c'est-à-dire d'une famille à une autre. Mais au sein d'une même famille, des facteurs stériques liés aux positions relatives de l'oxydryle phénolique et des groupements alcoyles présents sur le cycle aromatique, conduisent à des modifications du pouvoir associant du groupe oxydryle et doivent être envisagés afin d'expliquer les irrégularités observées. L'effet inductif des groupes méthyle sur l'acidité des phénols, ainsi que l'énergie de résonance des différents isomères d'une série homologue peuvent également être invoqués. En résumé, l'ordre d'émergence des isomères se caractérise par le fait que les dérivés possédant des groupements en position *ortho* par rapport à l'hydroxyle phénolique, sortiront d'une colonne avant les isomères *méta* et *para*, ces deux derniers ne se séparant pratiquement pas.

2) Lorsque le *glycérol* est utilisé comme phase liquide on note que l'ordre d'émergence est totalement différent de celui précédemment observé. Ceci peut être expliqué du fait que les forces de liaisons établies entre les phénols et le glycérol d'une part, et les phénols et la graisse de silicone de l'autre, sont de natures tout à fait différentes. La littérature ne contient pas de données physico-chimiques permettant de discuter d'une manière précise l'ensemble des mécanismes que l'on peut invoquer ici.

La comparaison des solubilités respectives de deux phénols : thymol et phénol, permet d'apporter un argument montrant la différence existant dans les solubilités de ces composés dans le glycérol, Le thymol est peu soluble dans ce solvant (1,75 g pour 100 g de glycérol (42)), alors que le phénol l'est beaucoup plus (60 g pour 100 g) (12). Les chaînes isopropylique et méthylique modifient les forces de Van Der Waals ainsi que les possibilités d'établissement de liaison hydrogène entre le thymol et la phase liquide fortement hydroxylée.

On notera que les recherches de Brooks et Collins (2) sur la séparation des bases pyrimidiques volatiles par chromatographie en

phase gazeuse, effectuées sur des phases stationnaires constituées par du glycérol et une graisse de silicone, montrent dans les deux cas des ordres d'émergence tout à fait différents : c'est ainsi que lorsque le glycérol est utilisé on observe : 2-éthylpyridine, α-picoline, pyridine et β-picoline, alors que sur silicone on note : pyridine, α-picoline, β-picoline et 2-éthylpyridine. L'inversion observée correspond à l'établissement dans le cas du glycérol, de ponts hydrogènes dûs à la mobilité des doublets électroniques de l'azote sous l'influence de la nature et des positions relatives des substituants aliphatiques présents sur l'hétérocycle.

3) Nous avons utilisé le *cholestérol* comme phase stationnaire. Il n'a jamais été employé dans ce but, à notre connaissance. Nous observons que dans la série des phénols l'ordre d'émergence est analogue à celui prévu par la comparaison des températures d'ébullition. Le gaïacol et l'eugénol ont seuls des comportements différents. On peut invoquer la présence dans leur molécule d'un groupement méthoxy en position *ortho* par rapport à l'hydroxyle phénolique, afin d'expliquer ce phénomène. Pour les autres phénols le noyau cyclopentanophénanthrénique volumineux doit agir comme une phase de nature paraffinique dont le comportement présente de grandes analogies avec les graisses de silicone. On notera que les phénols semblent se diviser en deux familles : la première constituée du phénol et de ses dérivés résultant de la substitution d'un hydrogène nucléaire du phénol par un groupement méthyl ou méthoxy, la seconde comprenant les dérivés chez lesquels deux hydrogènes du phénol ont été substitués (deux méthyls, un méthyl et un *iso*propyl, un métoxy et un allyl).

Nous avons réalisé des expériences permettant de comparer l'influence des principaux radicaux de la chimie organique sur le volume de rétention des dérivés monosubstitués du benzène. La phase stationnaire étant la graisse de silicone et la vapeur celle de l'éthanol, nous avons observé l'ordre d'émergence suivant : benzène, toluène, monochlorobenzène, monobromobenzène, aniline, phénol, nitrophénol.

En nous basant sur cet ordre, on peut classer les radicaux ainsi :

$$H- < CH_3- < Cl- < Br- < NH_2- < HO- < NO_2-$$

ce qui correspond à l'ordre de polarité croissante. Ces résultats sont en accord avec les données de la chromatographie gaz-liquide (James 19) et avec l'ordre prévu par la comparaison des températures d'ébullition.

3 - COURBE REPRESENTATIVE DE LA VARIATION DE LA CONCENTRATION D'UN SOLUTE DANS L'EFFLUENT -

Nous nous sommes proposé de comparer l'allure des *pics* expérimentaux correspondant à la sortie des solutés dans l'effluent de nos colonnes avec les courbes théoriques répondant à l'équation de Jaulmes et Mestres (22, 23) :

Nous rappellerons tout d'abord les définitions des symboles utilisés par ces auteurs :

Q : masse de soluté analysé.

dZ_n : masse de substance chromatographiée présente dans l'effluent lorsque la masse dN de gaz sort de la colonne.

$Z_n = \frac{dZ_n}{dN}$: ordonnée quelconque de la courbe représentative de la variation de la masse de soluté chromatographié.

$Z_{n(max)} = \left(\frac{dZ_n}{dN}\right)_{max.}$: ordonnée maximum de la courbe.

$R = \frac{Z_n}{Z_{n(max)}}$: rapport d'une ordonnée quelconque à l'ordonnée maximum.

N : masse de gaz traversant la colonne.

$N_{(max)}$: masse de gaz ayant traversé la colonne lorsque le soluté se trouve à son maximum de concentration dans l'effluent (volume de rétention).

M : masse de liquide contenue dans la phase stationnaire pour un segment de colonne correspondant à un plateau théorique.

K : coefficient de volatilité du soluté.

n : nombre de plateaux théoriques de la colonne.

$\sqrt{n}$: racine carrée du nombre de plateaux théoriques.

Si le nombre de plateaux théoriques est grand la courbe représentative de l'équation de Jaulmes et Mestres est :

$$\left(\frac{dZ_n}{dN}\right)_{max} = Q \frac{K}{M} \cdot \frac{1}{\sqrt{2\pi n}} \qquad [5]$$

Cette fonction passe par une valeur maximum pour une valeur remarquable de $N = N_{(max)}$ qui correspond au volume de rétention du soluté :

$$N_{max.} = n \frac{M}{K} \qquad [8]$$

expression que l'on peut écrire :

$$\frac{K}{M} = \frac{n}{N_{max}} \qquad [9]$$

Jaulmes et Mestres ont construit des courbes de la variation du rapport R d'une ordonnée quelconque à l'ordonnée maximum, pour une colonne de n plateaux théoriques en fonction de $\sqrt{n}$.

Cette manière d'exprimer les résultats présente les deux avantages suivants :

a) l'ordonnée maximum étant prise comme unité, tous les pics ont la même ordonnée.

b) en prenant sur l'axe des abscisses une unité pour chaque courbe égale à la racine carrée du nombre de plateaux théoriques ($\sqrt{n}$) toutes les courbes ont une longueur apparente voisine, ce qui permet de comparer leur forme par superposition.

Afin de comparer l'allure de nos courbes d'élution et celles auxquelles conduit la théorie de Jaulmes et coll. il nous est nécessaire de :

a) calculer le nombre de plateaux théoriques correspondant à la sortie de chaque soluté.

b) nos résultats expérimentaux nous donnant la variation de la concentration du soluté dans l'effluent en fonction de la masse N de vapeur traversant la colonne, d'exprimer cette masse N en fonction de la racine carrée du nombre de plateaux théoriques.

1) Calcul de n.

On note que si l'on porte la valeur du rapport $\frac{K}{M}$ de l'équation [9] dans l'expression [5] correspondant à la courbe d'élution, on obtient :

$$\left(\frac{dZ_n}{dN}\right)_{max} = Q \frac{\sqrt{n}}{N_{max}} \cdot \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \qquad [10]$$

qui permet d'exprimer n selon :

$$n = 2\pi \left[\frac{N_{max}}{Q}\left(\frac{dZ_n}{dN}\right)_{max}\right]^2 \qquad [11]$$

On observe que toutes les valeurs comprises dans le deuxième terme de cette équation nous sont connus expérimentalement.

Q : masse de substance chromatographiée (en g).

N_{max} : masse de liquide vaporisé pour la sortie du soluté à son maximum de concentration (en g).

$dZ_{n(max)}$: masse de soluté recueillie dans la fraction la plus riche (en g).

dN : masse de liquide vaporisé et recueilli dans chaque fraction (en g).

Ceci nous permet de calculer n.

2) Transformation de N en fonction de $\sqrt{n}$.

Chaque fraction recueillie (soit la $x^{ième}$ fraction) correspond à la vaporisation de N_x g de liquide. Si pour cette fraction on admet un coefficient caractéristique égal à : a_x on peut écrire :

$$N_x = \frac{M}{K} (n + a_x \sqrt{n}) \qquad [12]$$

En prenant pour origine des abscisses, l'ordonnée correspondant à N_{max} et en remplaçant N_x et N_{max} par leur valeur correspondante aux équations [9] et [12], on a :

$$N_x - N_{max} = \frac{M}{K} (n + a_x \sqrt{n}) - \frac{M}{K} n = a_x \frac{M}{K} \sqrt{n}$$

Or la valeur de $\frac{M}{K}$ est connue par la relation [9] d'où :

$$N_x - N_{max} = a_x \frac{N_{max}}{n} \sqrt{n} = a_x \frac{N_{max}}{\sqrt{n}}$$

et :

$$a_x = \frac{N_x - N_{max}}{N_{max}} . \sqrt{n} \qquad [13]$$

Les valeurs du deuxième terme de cette équation sont connues expérimentalement :

N_x : masse de liquide vaporisé (du temps 0 au temps pour lequel on a recueilli la $x^{ième}$ fraction.

N_{max} : masse de liquide vaporisé, correspondant à la sortie du soluté à sa concentration maximum dans l'effluent.

$\sqrt{n}$: racine carrée du nombre de plateaux théoriques.

De ce fait il nous est possible de transformer les différentes valeurs de N_x, correspondant à la sortie d'un soluté dans l'effluent, en fonction de $\sqrt{n}$.

3) Résultats.

Nous avons effectué ces calculs pour trois expériences particulières :

La première est relative à la chromatographie du phénol (glycérol (40 %). D : eau : 0,042 ml ; L : 1 m ; R : 140 °C). 21 points expérimentaux nous ont permis de construire la courbe.

La seconde est relative à la chromatographie du phénol dans des conditions différentes de la précédente (St : graisse de silicone (15 %) ; L : 3 m ; T : 130 °C. D : eau : 0,05 ml/mn). 13 chromatographies identiques ont été réalisées. Nous avons adopté comme valeur de la masse de soluté présent dans une fraction la moyenne des quantités de soluté déterminées dans les fractions de même rang au cours des différentes expériences. 7 points ont été ainsi établis.

La troisième est relative à la chromatographie du 2,4-xylénol dans les conditions identiques à la précédente expérience. 10 points ont été précisés.

Les résultats sont rassemblés sous forme de graphique dans la figure n° 32.

Nous avons également tracé à titre comparatif la courbe théorique de l'équation de Jaulmes et Coll. correspondant à une chromatographie d'un soluté sur une colonne ayant 100 plateaux théoriques.

L'examen du graphique de la figure n° 31 montre que, quelle que soit la substance chromatographiée et les conditions opératoires, la courbe représentative de la variation de la concentration d'un soluté dans l'effluent suit une loi unique. La courbe est différente de la courbe théorique de Jaulmes, elle est plus dissymétrique. Il semble logique de penser qu'un facteur supplémentaire doit intervenir dans l'équation de Jaulmes. Ce facteur ne semble pas être en rapport avec l'introduction dans les calculs de données correspondant à l'influence des espaces vides de la colonne qui ne modifieraient pas, d'une manière sensible, l'allure générale de la courbe.

On sait qu'au cours d'une opération chromatographique, il est rare qu'un processus à l'état pur soit mis en œuvre. La classification adoptée (chromatographie d'adsorption, d'échange d'ions et de partage) tend à idéaliser les mécanismes responsables des séparations. En pratique les phénomènes d'adsorption accompagnent toujours les autres processus. Nous pouvons donc penser qu'il en a été de même au cours de nos recherches. En chromatographie d'adsorption gaz-solide (44, 41) la courbure des isothermes d'adsorption conduit à rendre les courbes d'élution dissymétriques. Nous pensons qu'en chromatographie par entraînement à la vapeur des phénomènes secondaires d'adsorption et de désorption sont également responsables de la déformation enregistrée. A ceci près on peut admettre que la théorie de Jaulmes est la plus satisfaisante.

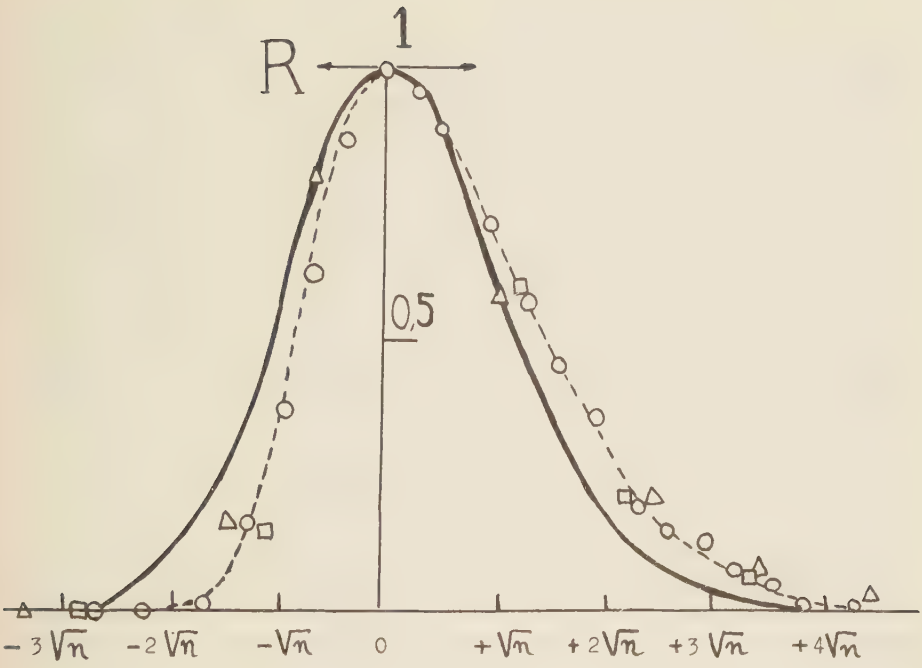


Figure 32 - Comparaison de la courbe représentative de l'équation de Jaulmes et Mestres (R, $\sqrt{n}$) pour n : 100 P.T. (trait continu) et de la courbe représentative de la variation de la concentration des solutés dans l'effluent par chromatographies par entraînement à la vapeur (dans diverses conditions expérimentales) du phénol et du 2,4-xylénol (trait discontinu), ramenées aux mêmes coordonnées.

- o - : points expérimentaux d'une chromatographie du phénol sur glycérol (40 %). L : 1 m ; T : 120 °C, D : 0,042 ml/mn. eau, n : 155 P.T.
- □ - : points expérimentaux moyens résultant de 13 chromatographies du phénol sur silicone (15 %). L : 3 m ; D : eau : 0,05 ml/mn. n : 69 P.T.
- Δ - : points expérimentaux moyens résultant de 13 chromatographies du 2,4-xylénol sur silicone (15 %) ; L : 3 m, D : eau : 0,05 ml/mn ; n : 187 P.T.

4 - POSITION DE NOTRE TECHNIQUE PARMI LES AUTRES METHODES CHROMATOGRAPHIQUES -

Quelle place peut prendre la méthode que nous proposons par rapport aux méthodes chromatographiques classiques ? Pour répondre à cette question on peut tenter une comparaison de nos résultats et de ceux relevés dans la littérature, comparaison difficile en raison de la diversité des méthodes et des techniques mises en œuvre.

Dans le domaine de l'analyse des hydrocarbures aromatiques simples (benzène, toluène et *o*-xylène), les travaux de Desty et Whyman (8) montrent que la chromatographie gaz-liquide permet une séparation totale de ces composés. Nos résultats (voir p. 58) sont en ce sens comparables à ceux de ces auteurs.

L'analyse des phénols, que nous avons étudiés, a été l'objet de très nombreux travaux en chromatographie (9). En particulier ceux-ci ont montré que, quelle que soit la méthode utilisée, (échange d'ions ou chromatographie de partage) la séparation des isomères est délicate. Dans ce cas la chromatographie gaz-liquide paraît être à l'heure actuelle, la méthode de choix, comme l'ont montré Kreyenbuhl et Weiss (30). On notera que les documents que nous avons établis peuvent soutenir la comparaison avec ceux de ces auteurs.

Nous sommes conduit à une conclusion analogue en ce qui concerne les amines aromatiques, en comparant les résultats publiés par James (19) et les nôtres (voir p. 69).

La séparation des dérivés nitrés et halogénés des phénols n'a pas fait l'objet de recherches en chromatographie gaz-liquide. Nous avons montré qu'elle est possible en chromatographie par entraînement par les vapeurs. Elle conduit à des résultats aussi satisfaisants que ceux obtenus en chromatographie de partage en colonne et sur papier (25, 38).

Il en est de même pour la séparation des aldéhydes aromatiques pour laquelle notre technique montre la possibilité d'étudier des substances facilement altérables.

Nous présentons, les premiers, un essai de séparation chromatographique des composés halogénés du benzène.

En résumé, dans le cadre de la séparation de divers composés aromatiques notre technique apporte, à l'aide d'un dispositif simple et peu onéreux, des résultats comparables à ceux obtenus par les techniques chromatographiques classiques. Par ailleurs, il faut considérer que nos recherches ont eu pour but de justifier la mise en œuvre d'un principe nouveau. On concevra donc que nous ne nous sommes pas systématiquement attaché à apporter à un problème analytique donné sa solution la meilleure. C'est dire que l'on est en droit d'espérer obtenir des résultats supérieurs, par la recherche des conditions optima, convenant à chaque problème analytique particulier.

On notera que la sensibilité de notre méthode dépend essentiellement de la technique analytique utilisée pour le dosage des solutés dans l'effluent. Les quantités de substances chromatographiées varient de quelques milligrammes (carbures aromatiques) à 50 µg (phénols). Il est indiscutable que les détecteurs modernes actuelle-

ment utilisés en chromatographie gaz-liquide confèrent à celle-ci une sensibilité infiniment supérieure. Néanmoins la possibilité de récupérer d'une manière aisée les solutés dans l'effluent compense, pour notre technique, la sensibilité des méthodes analytiques dont elle est à l'heure actuelle tributaire.

Enfin on notera que la précision des résultats quantitatifs obtenus en chromatographie par entraînement par les vapeurs (± 2 %) est du même ordre de grandeur que celle obtenue dans les meilleures conditions à l'aide des techniques chromatographiques classiques.

Le fait de récupérer les composés chromatographiés en solution permet la mise en œuvre de réactions analytiques spécifiques. L'emploi de la spectrographie ultra-violette, qui conduit à caractériser et à doser les substances sans perte de matière, est un complément précieux dans le domaine semi-préparatif, pour lequel notre méthode est applicable.

CHAPITRE VI

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1 Le but de notre travail a été de transposer l'entraînement par les vapeurs sur le plan de l'analyse chromatographique. Le principe d'une telle méthode présente de grandes analogies avec la chromatographie gaz-liquide à laquelle nous avons consacré la plus grande partie de notre introduction.

2 Au terme de nos recherches, nous sommes en mesure de proposer une méthode nouvelle que nous désignons sous le nom de *Chromatographie de partage par entraînement à la vapeur*. Les principales étapes et conclusions de ce travail sont les suivantes :

3 Nous décrivons un appareillage simple, facile à mettre en œuvre pour effectuer la séparation des substances aromatiques volatiles ou entraînables par les vapeurs.

4 Le dispositif, qui comporte des tubes de 1 à 6 mètres de longueur, permet d'obtenir une gamme étendue de température, ainsi que des débits de vapeurs constants et bien définis.

5 Nous avons étudié 44 substances organiques choisies parmi les plus typiques de la série aromatique pour effectuer environ 100 opérations chromatographiques. Les documents établis sont parfaitement reproductibles. Ils justifient l'emploi de notre méthode en analyse qualitative et quantitative.

6 Le rôle de la nature des phases stationnaires a été précisé par l'étude des volumes de rétention de divers phénols chromatographiés sur les trois phases liquides suivantes : glycérol, cholestérol et une graisse de silicone. Cette dernière s'est montrée avoir un caractère d'application plus général que les deux premières.

7 Nous avons montré qu'il existe une proportion optimum de phase liquide ou solvant à déposer sur le support inerte pour obtenir les

meilleures séparations des constituants d'un mélange de solutés donnés. Il nous paraît important de souligner cette notion à laquelle peu d'auteurs se sont intéressés avant nous.

8 En ce qui concerne l'influence de la longueur des colonnes, de la température, du débit des vapeurs d'entraînement et même de la proportion de phase liquide, nos recherches confirment, dans leur ensemble, les règles énoncées par Chesville et Scott (3) pour la chromatographie gaz-liquide, à savoir :

a) pour séparer des substances possédant des volumes de rétention faible, on opérera avec des colonnes longues, à une température aussi basse que possible, à un débit de vapeur lent.

b) pour séparer des substances possédant des volumes de rétention importants on utilisera des colonnes courtes, des températures supérieures, mais on aura intérêt à utiliser des débits de vapeur faibles.

c) il faut envisager l'utilisation de phases stationnaires de teneurs déterminées en phase liquide, c'est-à-dire, comme nous l'avons montré, correspondant à une efficacité optimum. Notons, ici, que ces teneurs sont sensiblement plus faibles que celles généralement préconisées.

9 Nous avons utilisé nos résultats, en particulier ceux relatifs à la chromatographie de certains phénols, pour les faire entrer, en tant que données numériques, dans l'équation traduisant la théorie de Jaulmes et Mestres. Ce faisant, nous sommes amené à conclure que cette théorie est assez satisfaisante mais qu'il faut envisager que des phénomènes secondaires (adsorption et désorption) accompagnent le processus propre de chromatographie de partage.

10 De l'ensemble de notre travail nous pouvons conclure que notre méthode mérite de prendre place à côté des méthodes classiques de l'analyse chromatographique. Un avantage digne de retenir l'attention réside dans la facilité de son application à l'isolement de faibles quantités de substances.

BIBLIOGRAPHIE

1 - BOEDECKER (F.) et VOLK (H.) - *D. Ch. G.*, 1931, *64*, 61.

2 - BROOKS (V. T.) et COLLINS (G. A.) - *Chem. and Ind.*, 1956, *10*, 1021.

3 - CHESHIRE (J. D.) et SCOTT (R. P. W.) - *J. Inst. Petrol.*, 1958, 74.

4 - CHOVIN (P.) - *Bull. Soc. Chim.*, 1957, 83.

5 - CHOVIN (P.) - *Bull. Soc. Chim.*, 1958, 905.

6 - CHOVIN (P.) - *Bull. Soc. Chim.*, 1960, 755.

7 - CHOVIN (P.) et LEBRE (J.) - *Monographies de Chimie Organique - Chromatographies en Chimie organique et biologique.* (E. Lederer) Vol. I. Masson et Cie, Paris 1959, p. 237.

8 - DESTY (D. H.) et WHYMAN (B. H. F.) - *Anal. Chem.*, 1957, *29*, 320.

9 - DIETRICH (P.) - *Monographies de Chimie Organique - Chromatographie en Chimie organique et biologique* (E. Lederer) Vol. I., Masson et Cie, Paris, 1959, p. 411.

10 - DUMAZERT (C.) et GHIGLIONE (C.) - *Bull. Soc. Chim.*, 1959, 615.

11 - FOLIN (O.) et CIOCALTEU (V.) - *J. Biol. Chem.*, 1927, *73*, 627.

12 - FREHSE - *Bull. Soc. Chim.*, 1902, *27*, 356.

13 - GATTERMANN (L.) - *Manuel pratique de Chimie Organique*, Payot Paris, 1946, p. 245.

14 - GILLAM (A.), STERN (E. S.) et JONES (E. R. H.) - *An introduction to electronic absorption spectroscopy in organic chemistry*, Edward Arnold, London, 1954.

15 - GILLILAND (E.R.) - *Ind. Eng. Chemistry.*, 1934, *26*, 686.

16 - GORDON (A.H.), MARTIN (A.J.P.) et SYNGE (R.L.M.) - *Biochem. J.* 1944, *38*, 65.

17 - HAUSCHILD (R.) et PETIT (J.) - *Bull. Soc. Chim.*, 1956, 878.

18 - HERSHENSON (H.M.) - *Ultraviolet and visible spectra*, index for 1930-1954. Academ. Press. Inc. New-York, 1956.

19 - JAMES (A.T.) - *Endeavour*, 1956, *15*, 78.

20 - JAMES (A.T.) et MARTIN (A.J.P.) - *Biochem. J.*, 1952, *50*, 679.

21 - JAULMES (P.) - *Bull. Soc. Chim.*, 1937, *4*, 157.

22 - JAULMES (P.) et MESTRES (R.) - *J. Chim. phys.*, 1959, *56*, 920.

23 - JAULMES (P.) et MESTRES (R.) - *C.R. Acad. Sci.*, 1959, *248*, 2752.

24 - JAULMES (P.) et MESTRES (R.) - *Bull. Soc. Chim.*, 1960, 789.

25 - JOHNSON (G.R.A.), STEIN (G.) et WEISS (J.) - *J. Chem. Soc.*, 1951, 3275.

26 - KEULEMANS (A.I.M.) - *Gaz chromatography*. Reinhold publishing Corporation, 1957, New-York.

27 - KEULEMANS (A.I.M.) et KWANTES (A.) - *Vapour phase chromatography*. Butterworths Scientific publications, London, 1957.

28 - KEULEMANS (A.I.M.), KWANTES (A.) et ZAAL (P.) - *Anal. Chim. Acta*, 1955, *13*, 357.

29 - KLAGES (A.) - *Ber.*, 1899, *32*, 1517.

30 - KREYENBUHL (A.) et WEISS (H.) - *Bull. Soc. Chim.*, 1959, 1880.

31 - LECAT (M.) - in *Traité de Chimie Organique* (V. Grignard) Masson Ed. Paris, 1935, p. 120.

32 - LITTLEWOOD (A.B.), PHILLIPS (C.S.G.) et PRICE (D.T.) - *J. Chem. Soc.*, 1955, 1480.

33 - MAGAT (M.) et MAIER (N.) - *Tables annuelles de constantes et données numériques, 39, Spectres d'absorption des liquides, solutions et solides*. Hermann, Paris, 1949.

34 - MARTIN (A.J.P.) - *Ann. Rev. Biochem.*, 1950, *19*, 517.

35 - MARTIN (A.J.P.) et SYNGE (R.L.M.) - *Biochem. J.*, 1941, *35*, 1358.

36 - MESTRES (R.) - *J. Chim. Phys.*, 1957, *54*, 753.

37 - NAVES (Y.R.) - in *Traité de Chimie Organique* (V. Grignard) Masson Ed. Paris 1949, Tome XVI, p. 467.

38 - OGLOBIN (K.A.) et MARKINA (G.V.) - *Zhur Obshehey Khim.*, 1954, *24*, 1965.

39 - PETERS (W.) - *Industr. Engen. Chem.*, 1922, *14*, 476.

40 - ROHRSCHNEIDER (L.) - *Z. Anal. Chem.*, 1959, *170*, 256.

41 - ROUBAUD-VALETTE (J.) - *J. Chim. Phys.*, 1953, *50*, 117.

42 - SEIDELL - *Solubilities of organic compounds*, vol 2, 3° d. D. Van Nostrand Compagny Inc. Princeton (N.J.).

43 - STRAIN (H.H.) - *Chem. Eng. News*, 1952, *30*, 1372.

44 - THOMAS (H.C.) - *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1948, *49*, 161.

45 - UYEO (S.), MIWA (T.) et NAKANISHI (M.) - *J. Chem. Soc. Japan* 1943, *64*, 659.

46 - VAN DEEMTER (J.J.), ZUIDERWEG (G.J.) et KLINKELBERG (A.) - *Chem. Eng. Sci.*, 1956, *5*, 271.

47 - VESPE (V.C.) et BOLTZ (D.E.) - *Anal. Chem.*, 1952, *24*, 664.

48 - WURTZ (A.) - *Dictionnaire de chimie pure et appliquée*, Hachette Paris, 1868, Tome I, 2ème partie, p. 1104.

FORMULAIRE

Définition des symboles.

P. M. : poids moléculaire.

Eb : point d'ébullition (°C, 760 mm).

λ_m : longueur d'onde du maximum d'absorption.

ε_m : coefficient d'extinction moléculaire.

* - Valeurs déterminées à partir de nos échantillons.

** - HODGMAN (C. D.), WEAST (R. C.), WALLACE (C. W.) et SELBY (S. M.) - *Handbook of chemistry and physics* 36° Ed. Chemical Rubber publ. Cleveland (Ohio).

NOM	P. M.**	Eb_{760}**	Données spectrophotométriques			
			solvant	λ_m (mμ)	ε_m	Ref.
Carbures aromatiques.						
Benzène	78, 11	80, 1	éthanol	255	215	(1)
Toluène (méthyl-benzène)	92, 13	110, 6	éthanol	261	208	(5)
o-xylène (diméthyl-1, 2 benzène)	106, 16	144, 4	éthanol	266	225	(5)
Dérivés halogénés des carbures aromatiques.						
Bromobenzène	157, 02	155-6	éthanol	263	310	(6)

NOM	P. M.**	Eb_{760}**	Données spectrophotométriques			
			solvant	λ_m (mμ)	ε_m	Ref.
Chlorobenzène	112, 56	132	éthanol	264	220	*
o-Dichlorobenzène (Dichloro-1, 2 benzène).	147, 01	180	éthanol	270	220	*
p-Dichlorobenzène (Dichloro-1, 4 benzène).	147, 01	173, 4	éthanol	270	247	*
Alcool aromatique.						
alcool benzylique	108, 13	205, 2	éthanol	268	112	(4)
Phénols.						
Phénol	94, 11	182	éthanol	275	2 090	(4)
			eau	269	1 410	(4)
o-crésol (oxy-1 méthyl-2 benzène)	108, 13	191, 5	éthanol	275	2 090	(2)
			eau	270	1 886	*
m-crésol (oxy-1 méthyl 3 benzène)	108, 13	202, 8	éthanol	276	2 180	(2)
			eau	271	1 544	*
p-crésol (oxy-1 méthyl 4 benzène)	108, 13	202, 5	éthanol	279	2 006	(2)
			eau	275	1 669	*
2, 4-xylénol (oxy-1 diméthyl-2, 4 benzène)	122, 16	211, 5	éthanol	278	1 892	*
			eau	276	1 685	*
thymol (oxy-1 méthyl-3 isopropyl-6 benzène)	150, 21	233, 5	éthanol	276	2 118	*
			eau	273	1 740	*

NOM	P. M.**	Eb_{760} **	Données spectrophotométriques			
			solvant	λ_m (mμ)	ε_m	Ref.
carvacrol (oxy-1 méthyl-2 isopropyl-5 benzène)	150, 21	237, 9	éthanol eau	275 272	1 787 1 502	* *
gaïacol (oxy-1 méthoxy-2 benzène)	124, 13	205	éthanol eau	274 273	2 572 2 083	(2) *
eugénol (oxy-1 méthoxy-2 allyl-4 benzène)	164, 2	252	éthanol eau	282 280	2 000 2 000	(4-8) *
isoeugénol (oxy-1 méthoxy-2 propényl-4 benzène)	164, 2	267, 5	éthanol eau	261 254	20 000 14 000	* *
Ether-oxydes phénoliques.						
Anisol (méthoxybenzène)	108, 1	155	éthanol	272	2 090	(2)
O-méthyl-*o*-crésol (méthoxy-1 méthyl-2 benzène)	122	173	éthanol	270	2 074	*
O-méthyl-*p*-crésol (méthoxy-1 méthyl-4 benzène)	122	176	éthanol	278	1 890	*
Vératrol (diméthoxy-1, 2 benzène)	138, 16	207	éthanol	274	2 520	(2)
Diméthyl-éther du résorcinol (dimethoxy -1, 3 benzène)	138, 16	217	éthanol	275	2 090	(2)
Diméthyl-éther de l'hydroquinone (diméthoxy-1,4 benzène)	138, 16	205	éthanol	291	2 390	(2)

NOM	P. M.**	Eb_{760}**	Données spectrophotométriques			
			solvant	λ_m (mμ)	ε_m	Ref.
O-méthyl thymol (méthoxy-1 méthyl-3 isopropyl-6 benzène)	164, 24	216	éthanol	273	2 378	*
Aldéhydes aromatiques.						
Benzaldéhyde (formyl-benzène)	106, 12	179, 5	éthanol	244 280 328	15 850 1 590 19	(1)
Salicylaldéhyde (oxy-1 formyl-2 benzène)	122, 12	196, 5	éthanol	325	3 660	(3)
Anisaldéhyde (méthoxy-1 formyl-4 benzène)	136, 14	247	éthanol	275	22 380	(4)
Vanilline (oxy-1 méthoxy-2 formyl-4 benzène)	152, 14	285 dans CO_2	éthanol	310	10 792	(3)
Cétones aromatiques.						
Acétophénone (méthyl phényl cétone)	120, 1	202, 3	éthanol	244 278 319	15 900 1 000 50	(1)
Dérivés nitrés aromatiques.						
Nitrobenzène	123, 11	258	éthanol	260	9 130	(4)
Amines aromatiques.						
Amines primaires.						
Aniline (aminobenzène)	93, 12	184, 4	éthanol	282 261	169 645	(4)
			eau	280	139	(4)

NOM	P. M.**	Eb_{760}**	Données spectrophotométriques			
			solvant	λ_m (mμ)	ε_m	Ref.
o-toluidine (amino-1 méthyl-2 benzène)	107, 15	199, 84	eau	230 280	174 759	(4)
p-toluidine (amino-1 méthyl-4 benzène)	107, 15	200, 3	eau	234 288	813	(4)
Amines secondaires						
N-monométhyl-aniline.	107, 15	195, 7	eau	236 282	10 700 1 872	*
N-monoéthyl-aniline.	121, 18	204, 72	eau	237 280	11 000 1 920	(7)
Amines tertiaires.						
NN-diméthylaniline	121, 18	193	eau	243 285	15 360 1 752	*
NN-diéthylaniline	149, 23	215, 15	eau	260	447	(1)
Dérivés halogénés du phénol.						
o-chlorophénol (oxy-1 chloro-2 benzène)	128, 5	175, 6	eau	271	2 240	*
p-chlorophénol (oxy-1 chloro-4 benzène)	128, 5	217	eau	279	1 485	*
Dérivés nitrés du phénol.						
o-nitrophénol (oxy-1 nitro-2 benzène)	139, 11	214, 5	éthanol eau	272 345 276 348	6 000 3 140 6 045 2 835	(7)

NOM	P. M.**	E_{760}**	Données spectrophotométriques			
			solvant	λ_m (mμ)	ε_m	Ref.
m-nitrophénol (oxy-1 nitro-3	139, 11	194 (70 mm)	éthanol	230 270 330-4	9 600 5 600 2 110	(7)
p-nitrophénol (oxy-1 nitro-4 benzène)		279 (d)	éthanol	224 312	7 100 10 600	(7)

BIBLIOGRAPHIE

1 - GILLAND (A.), STERN (E. S.) et JONES (E. R. H.) - *An introduction to electronic absorption spectroscopy in organic chemistry* E. Arnold (publ.) London, 1954.

2 - KISS (A.),MOLNAR (J.) et SANDORFY (C.) - *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1949, p. 275.

3 - LEMON (H. W.) - J. of An. Chem. Soc., 1947, *69*, 2 998.

4 - MAGAT (M.) et MAIER (N.) - *Spectres d'absorption des liquides solutions et solides.* Hermann et Cie (Ed.) Paris, 1943.

5 - RAMART-LUCAS (P.) - *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1950, p. 317.

6 - ROBERTSON (W.) et MATSEN (F. A.) - *J. of Am. Chem. Soc.*, 1950, 72, 5 253.

7 - SCHROEDER (W. A.), WILCOX (P.E.), TRUEBLOOD (K. W.) et DEKKER (A. O.) - *Anal. Chem.*, 1951, *23*, 1740.

8 - VESPE (V. C.) et BOLTZ (D. F.) - *Anal. Chem.* 1952, *24*, 664.

IMP. LOUIS-JEAN – GAP

Dépôt légal n 57 – 1961

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

Vu et permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie d'Aix-Marseille
J. BLACHE
Aix, le 31 janvier 1961